

Rastreio Metabólico

Ana Marcão

ana.marcao@insa.min-saude.pt

**Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge
Departamento de Genética Humana
Unidade de Rastreio Neonatal, Metabolismo e Genética**

**Universidade Católica - Porto
27 de junho de 2025**

Rastreio Metabólico

Breves notas sobre o rastreio neonatal

O que é? Como surgiu? Como evoluiu?

Rastreio neonatal em Portugal

Organização do Programa Nacional

Doenças rastreadas

Colheita da amostra

Processamento das amostras para rastreio neonatal

Rastreio do HC

Rastreio da FQ

Rastreio da Drepanocitose

Rastreio da AME

Estudo Piloto para o rastreio da SCID

Rastreio das Doenças Hereditárias do Metabolismo

Resultados globais do PNRN

Presente e Futuro do rastreio neonatal

Programa Nacional de Rastreio Neonatal (PNRN)

- Programa **integrado** de saúde pública, **sistemático**, e destinado a todos os recém-nascidos com nascimento em Portugal
- **Objetivo Principal:** efetuar o diagnóstico pré-sintomático de doenças graves, de forma a instituir terapia precoce, com claros benefícios para o RN

Programa Nacional de Rastreamento Neonatal (PNRN)

Sistemático, integrado e dinâmico



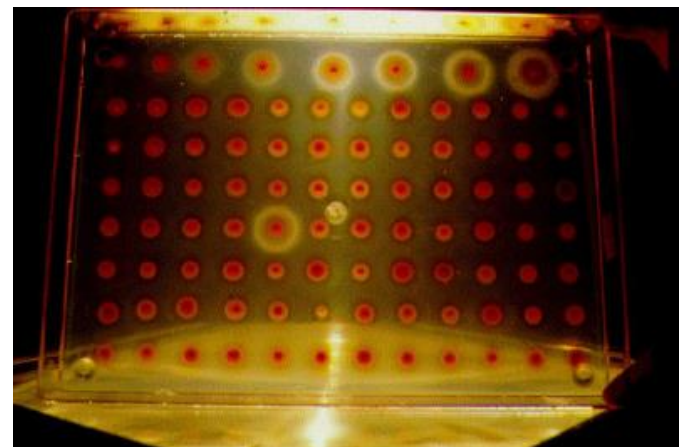
Rastreio Neonatal

1961-1963 - Rastreio da Fenilcetonúria (Robert Guthrie)

- DHM grave, mas detetável ao nascimento em período pré-sintomático
- Terapia eficaz, se iniciada precocemente (Bieckel, 1953)
- Técnica de rastreio rápida, específica, aplicável a grande nº de amostras (Guthrie & Susi, 1961) e economicamente aceitável para a comunidade
- Amostra estável, fácil de colher e transportar

Teste de inibição bacteriana (*Bacillus Subtilis*) para determinação da concentração de Phe em amostras de sangue seco em papel de filtro.

A SIMPLE PHENYLALANINE METHOD FOR DETECTING PHENYLKETONURIA IN LARGE POPULATIONS OF NEWBORN INFANTS
Robert Guthrie and Ada Susi. Pediatrics September 1963, 32 (3) 338-343.



Fenilcetonúria

Aminoacidopatia: Doença hereditária do metabolismo da **fenilalanina**

Incidência: 1: 11 247 (PNRN, 2023)

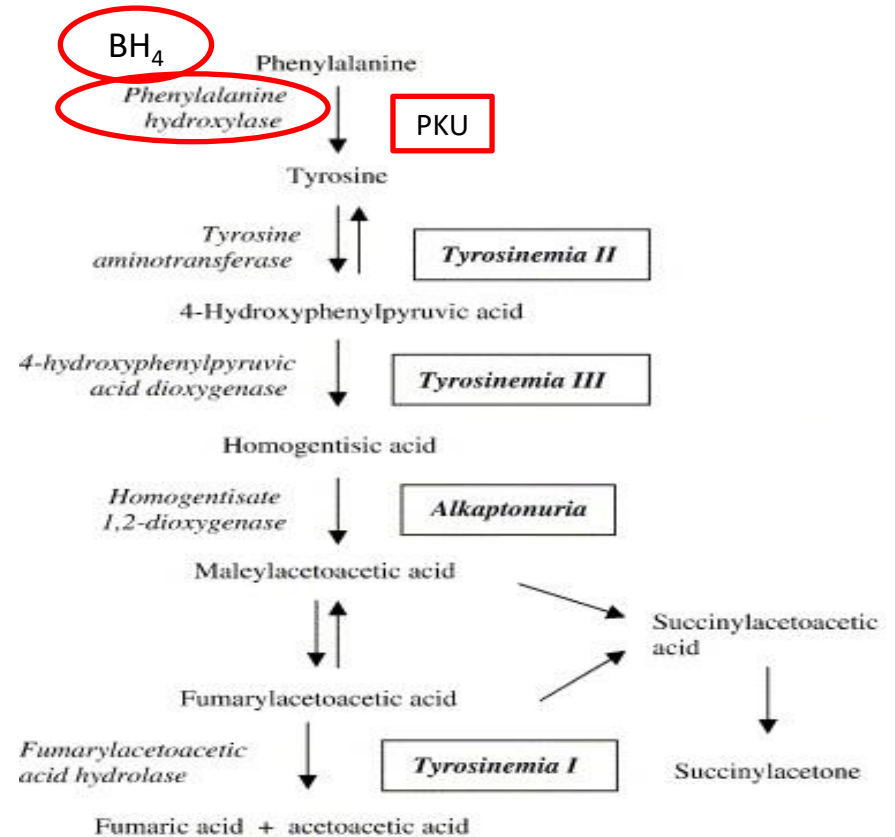
Diagnóstico: ↑ fenilalanina ↓ tirosina

Défice enzimático: **Fenilalanina hidroxilase** (gene PAH ou def. co-fator **BH₄**)

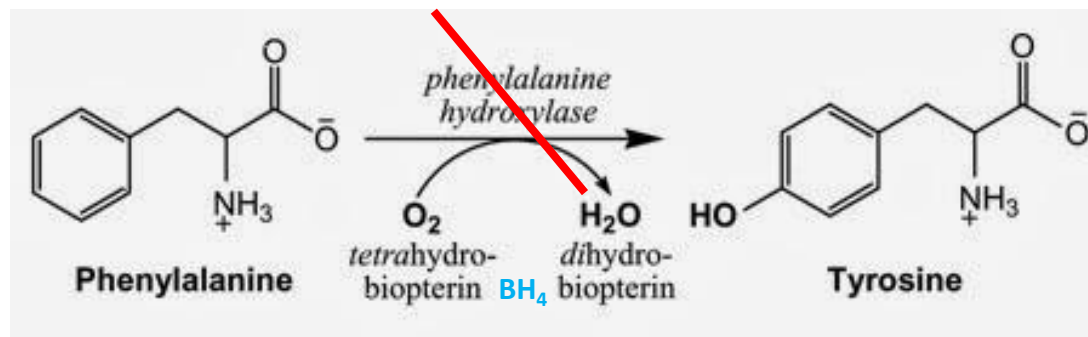
Sintomas: alterações irreversíveis no SNC, atraso de desenvolvimento psicomotor e cognitivo, alterações neurológicas e comportamentais, convulsões, microcefalia.

Tratamento: Dieta hipoproteica (restrição em fenilalanina), administração de BH₄ (teste individual de avaliação da resposta)

Via de degradação da Phe



Aminoacidopatias - Fenilcetonúria



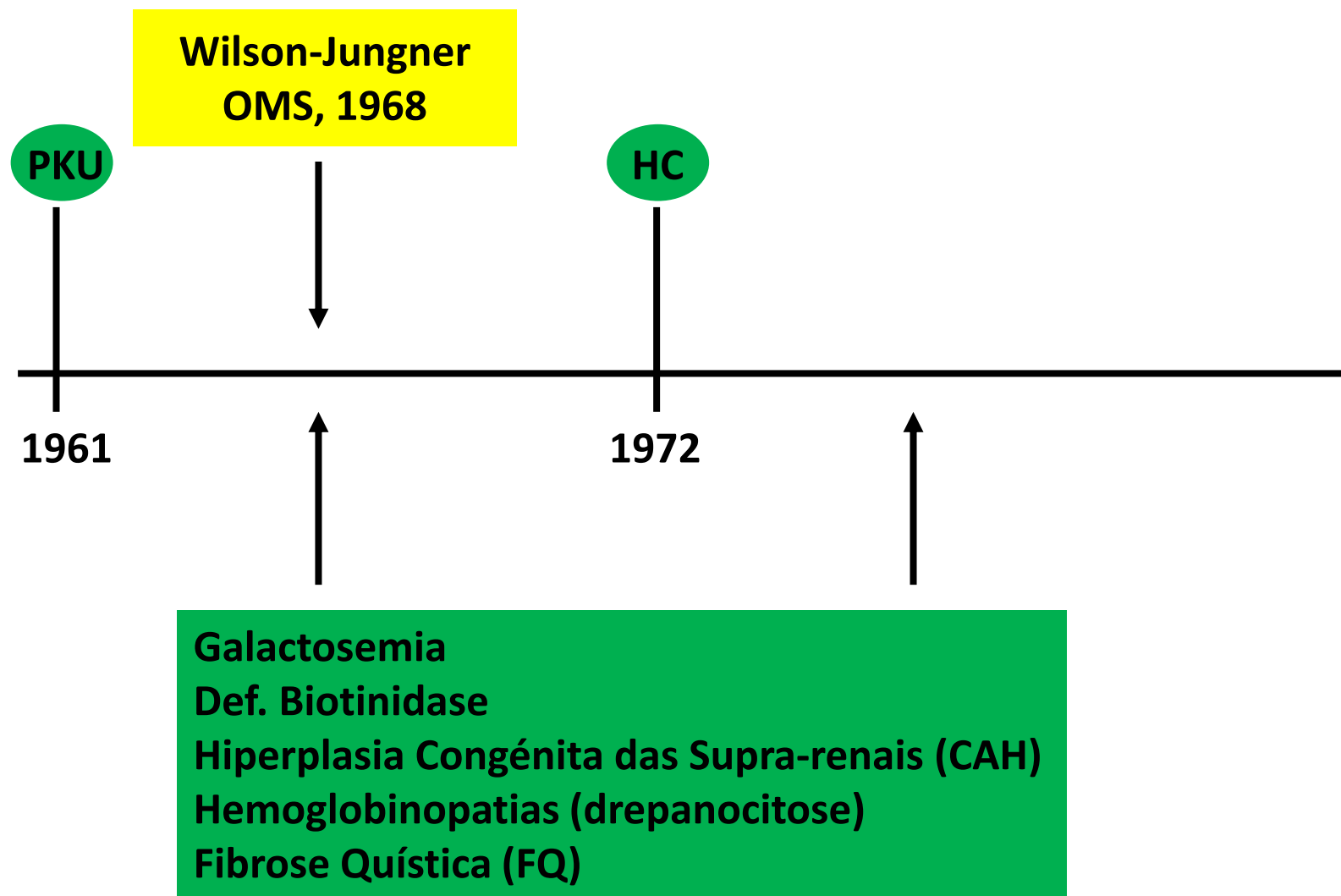
↑
Phe

Acumulação de
produtos tóxicos
derivados

↓
Tyr

Depleção de
produtos
essenciais

Desenvolvimento do Rastreo Neonatal

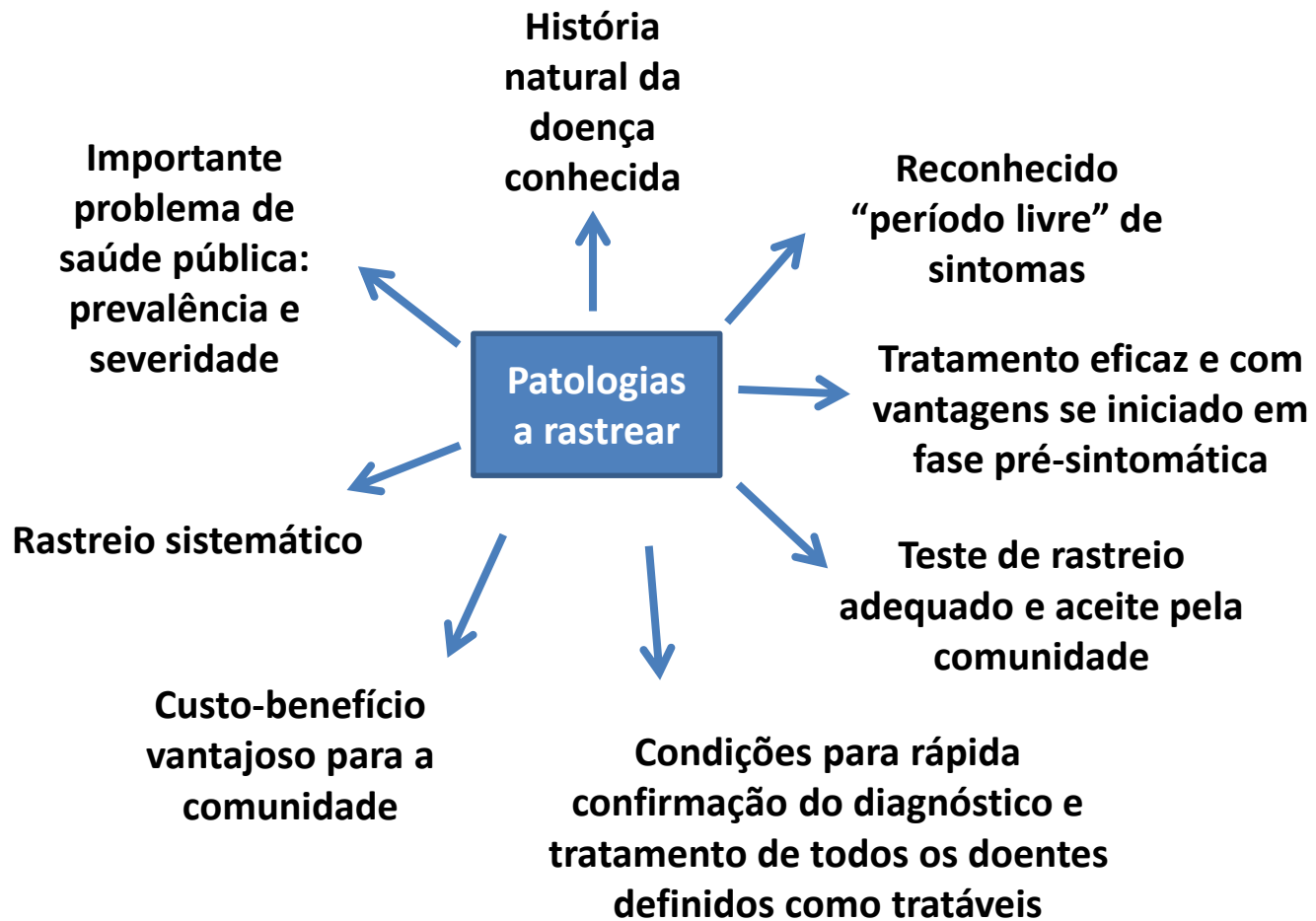


The Wilson-Jungner criteria

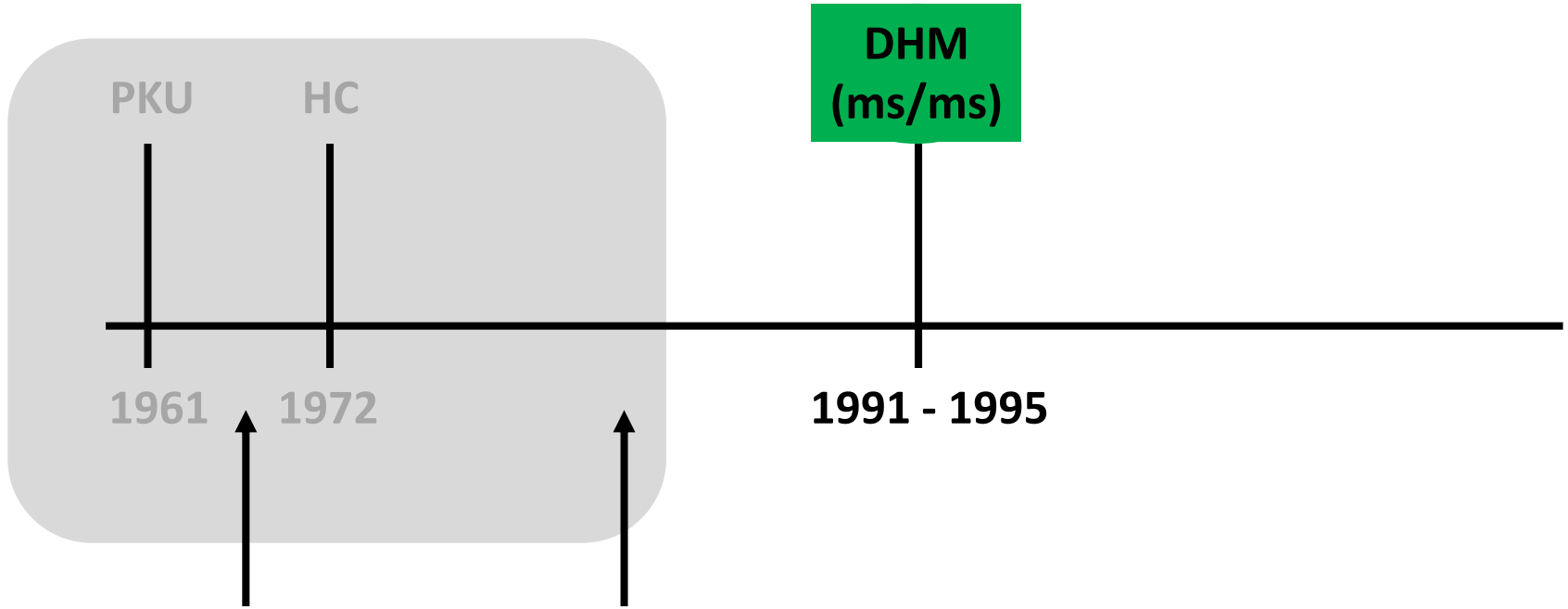
1. The condition sought should be an important health problem.
2. There should be an accepted treatment for patients with recognized disease.
3. Facilities for diagnosis and treatment should be available.
4. There should be a recognizable latent or early symptomatic stage.
5. There should be a suitable test or examination.
6. The test should be acceptable to the population.
7. The natural history of the condition, including development from latent to declared disease, should be adequately understood.
8. There should be an agreed policy on whom to treat as patients.
9. The cost of case-finding (including diagnosis and treatment of patients diagnosed) should be economically balanced in relation to possible expenditure on medical care as a whole.
10. Case-finding should be a continuing process and not a “once and for all” project.

World Health Organisation 1968

Critérios de Wilson-Jungner WHO, 1968



Desenvolvimento do Rastreo Neonatal





Galactosemia
Def. Biotinidase
Hiperplasia Congénita das Supra-renais (CAH)
Hemoglobinopatias (drepanocitose)
Fibrose Quística (FQ)


DHM – *ms/ms*

1990 – rastreio neonatal por *ms/ms*

1 amostra → 1 análise → 1 doença

 2020-09	Phe	PKU
 2020-09	TSH	HC

1 amostra → 1 análise → múltiplas doenças

 2020-09	Perfil <i>ms/ms</i> (AA+AC)	> 40 doenças
---	--------------------------------	--------------

Aminoacidopatias
Acidúrias orgânicas

Doenças da β -oxidação mitocondrial dos ácidos gordos

DHM – *ms/ms*

Perfil metabólico por *ms/ms* (AA+AC)



Novo conceito: “Um teste para múltiplas doenças”



DHM muito raras

- ✓ Achados anormais frequentes e que requerem interpretação do perfil completo
- ✓ Interpretação de perfis exige experiência e “know-how” (inclui avaliação da relevância clínica de cada achado anormal)
- ✓ Necessidade de testes de rastreio de elevada sensibilidade e especificidade



- ✓ Controlo de qualidade e formação adquirem importância extra

Revisiting Wilson and Jungner in the genomic age: a review of screening criteria over the past 40 years

Anne Andermann, Ingeborg Blancquaert , Sylvie Beauchamp , Véronique Déry

Synthesis of emerging screening criteria proposed over the past 40 years

- The screening programme should respond to a recognized need.
- The objectives of screening should be defined at the outset.
- There should be a defined target population.
- There should be scientific evidence of screening programme effectiveness.
- The programme should integrate education, testing, clinical services and programme management.
 - There should be quality assurance with mechanisms to minimize potential risks of screening.
 - The programme should ensure informed choice, confidentiality and respect for autonomy.
 - The programme should promote equity and access to screening for the entire target population.
 - Programme evaluation should be planned from the outset.
- **The overall benefits of screening should outweigh the harm.**

Rastreio Neonatal em Portugal



Dr Jacinto de Magalhães



Dr Rui Vaz Osório



**Instituto de Genética Médica
Dr Jacinto de Magalhães**



**Instituto Nacional de Saúde
Doutor Ricardo Jorge - Porto**

Rastreio Neonatal em Portugal

Despacho de 13 abril de 1981 – Primeira Comissão Nacional e Centro Coordenador Nacional para o Diagnóstico Precoce

Despacho nº 752/2010 – Aprovação do Programa Nacional de Diagnóstico Precoce

Despacho n.º 7276/2019, de 6 de agosto. Aprovação do Programa Nacional de Rastreio Neonatal

São objetivos específicos do Programa (Despacho n.º 7276/2019):

- a) Rastrear e diagnosticar precocemente, na criança, doenças hereditárias ou não, cujo tratamento evite atraso mental, doença física irreversível ou a morte;
- b) Encaminhar os doentes identificados para os Centros de Tratamento da rede nacional;
- c) Contribuir para a gestão integrada dos cuidados e a resposta às necessidades desses doentes e das suas famílias;
- d) Promover a investigação nessas doenças e a disseminação do conhecimento;
- e) Desenvolver intervenções que melhorem o conhecimento das doenças identificadas pelo rastreio na comunidade e entre os profissionais de saúde.

Programa Nacional de Rastreio Neonatal (PNRN)

- ✓ Divulgação do programa, sensibilização e formação
- ✓ Investigação e disseminação de conhecimento em Doenças Raras
- ✓ Protocolos de colaboração com associações de doentes
- ✓ Estreita colaboração com centros de colheita e centros de tratamento / centros de referencia



Mais questões?

Esta brochura não substitui as informações que podem, e devem ser prestadas pelo seu médico e outros profissionais de saúde. Caso pretenda, também pode contactar as instituições referenciadas no presente folheto.

Para mais informações:

Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA)
Unidade de Rastreio Neonatal, Metabolismo e Genética
Rua Alexandre Heróclides, 321, 4000-055 Porto

Para qualquer dúvida pode contactar o Secretariado da Unidade de Rastreio Neonatal, através dos telefones:
223 461 360/ 223 461 176/ 223 461 170

Ou via e-mail: pn@inadnsicopropce.pt

Ou site: www.insa.pt ou www.diagnosticoportugal.pt

Associação Portuguesa de Doentes com Imunodeficiência Primária (APDPI), www.apdpi.pt

International Patient Organisation for Primary Immunodeficiencies (IPOP), www.iipop.org



Rastreio Neonatal da
Imunodeficiência Combinada Grave

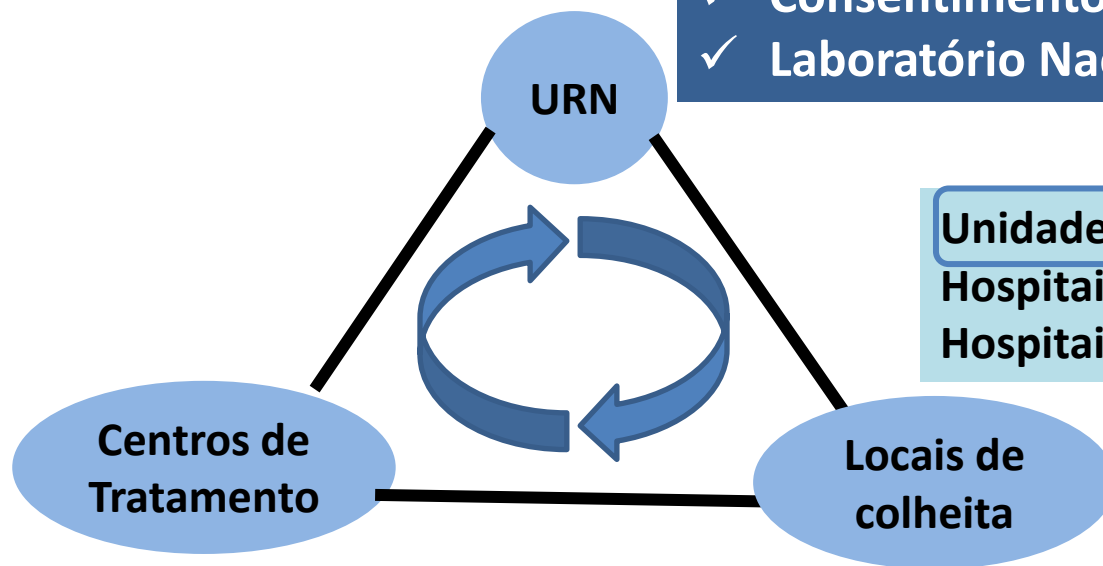


- ✓ Elaboração e distribuição de folhetos informativos: rastreio neonatal, estudos piloto.
- ✓ Elaboração e disponibilização online de Relatório anual
- ✓ Publicação de artigos científicos em revistas da especialidade

Organização do Programa Nacional de Rastreio Neonatal

- ✓ Presidente (Presidente do INSA)
- ✓ Comissão Técnica Nacional
- ✓ Comissão Executiva

- ✓ Rastreio voluntário
- ✓ Consentimento informado implícito
- ✓ Laboratório Nacional (350/d)



Unidades de Saúde Familiar (75%)
Hospitais Públicos
Hospitais /Clínicas privados

- ✓ Hospitais Centrais com consulta especializada
- ✓ Centros de Referência

(>36h de alimentação)

Centros de Tratamento / Referência

Laboratório nacional

Porto

- Centro Hospitalar de São João, E. P. E.
- Centro Hospitalar e Universitário do Porto, E. P. E.

Coimbra

- Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, E. P. E.

Lisboa

- Centro Hospitalar Lisboa Norte, E. P. E.
- Centro Hospitalar de Lisboa Central, E. P. E.



- ▼ Centros de referência para DHM e FQ / CT para Drepanocitose, HC, SMA
- ▼ H. Fernando Fonseca e H. Garcia de Orta – CT para Drepanocitose

Cartão de colheita para o Rastreo Neonatal



2022-08-31


LOT 7153019W171

903™



ISN 5201900063300

DGH URN-IM21_03

PROGRAMA NACIONAL DO RASTREIO NEONATAL	
Se esta colheita for uma repetição, assinale com uma cruz <input type="checkbox"/>	
Nome da Mãe _____	
Endereço _____	
C. Postal _____	
Localidade _____	
Nascimento _____	Idade Gestacional _____
Colheita _____	Peso _____
Alimentação - Peito <input type="checkbox"/> Outra <input type="checkbox"/>	Icterícia <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Medicação <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Qual _____	Sexo <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F
Local de Colheita _____	Gêmeos <input type="checkbox"/> 1º <input type="checkbox"/> 2º <input type="checkbox"/> 3º
Seg. Soc. <input type="checkbox"/> ADSE <input type="checkbox"/>	
Nº Beneficiário _____	
Nº Utente _____	
 COLABORE CONNOSCO no pezinho do bebé pode estar o seu futuro	ENVIAR PARA: INSTITUTO NACIONAL DE SAÚDE DOUTOR RICARDO JORGE Unidade de Rastreo Neonatal, Metabolismo e Genética Rua Alexandre Herculano, 321 4000-055 Porto Telef. 223 401 168 / 18 / 70



ISN 5201900063300

Para os Pais
NOTA: CONSERVE ESTE TALÃO
Continue a recepção da ficha e o
resultado do teste do seu filho em
www.diagnosticoprecoce.pt duas semanas
após a colheita, com este número de código
de barras e o seu número de telefone de contacto.

Papel de filtro
certificado para
rastreo neonatal

- ✓ Cartões para colheita da amostra e folhetos informativos são enviados gratuitamente para todos os centros de colheita
- ✓ Código de barras único e número de telefone permitem acesso ao resultado

www.diagnosticoprecoce.org

Colheita de amostra para rastreio neonatal

Quando?

Estando asseguradas **36h** de alimentação adequada à sua idade gestacional/peso.

Doenças de intoxicação Vs. Doenças metabolismo energético

Onde?

Hospital ou maternidade

Centro de Saúde (Unidade de Saúde Familiar)

Clinicas / consultório médico/ domicílio

Colheita de amostra para rastreio neonatal

Como?

Nas zonas laterais do pé do RN, junto ao calcanhar

Não utilizar analgésicos ou anticoagulantes locais

Utilizar lanceta adequada ao rastreio neonatal

Colher diretamente para o cartão de Guthrie

Deve **impregnar os dois lados do papel de filtro**

Devem ser preenchidos **pelo menos 3 círculos**



Colheita de amostra para rastreio neonatal

Conservação e envio para o laboratório

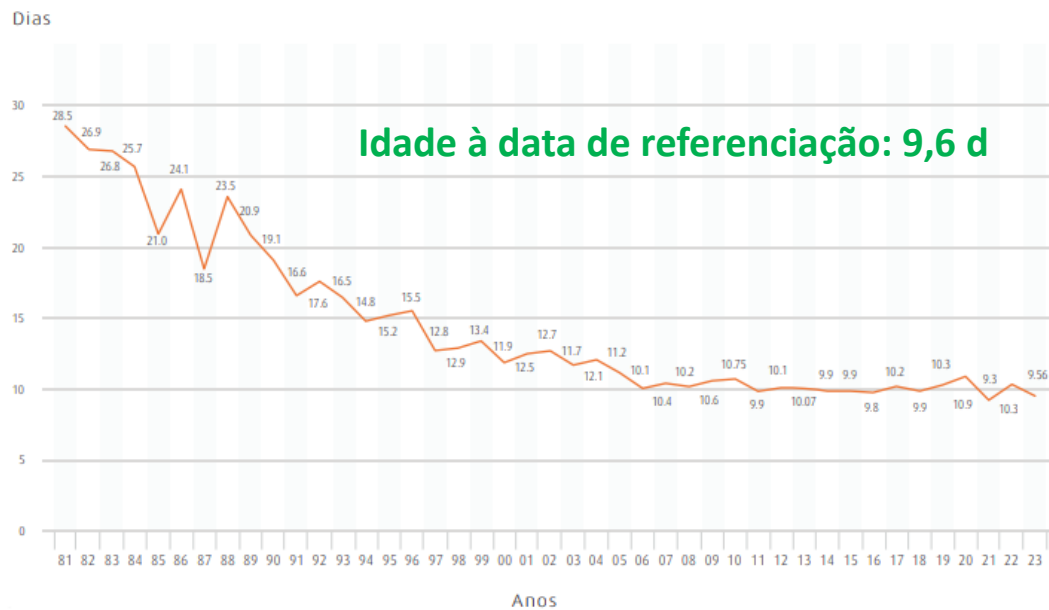
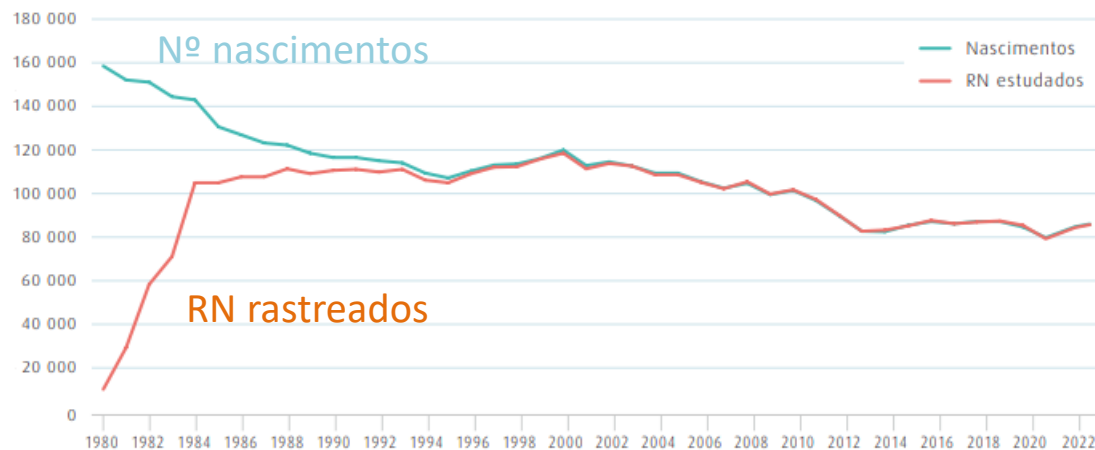
Deixar o sangue secar naturalmente (não expor a fontes de calor)

Enviar para o laboratório num envelope de papel, o mais rapidamente possível (correio azul, transportador especializado)

Excecionalmente, e após estar completamente seca, conservar no frigorífico, num envelope de papel bem identificado e em local visível

Avaliação anual e indicadores do PNRN

Taxa de cobertura: 100%



Avaliação anual e indicadores do PNRN

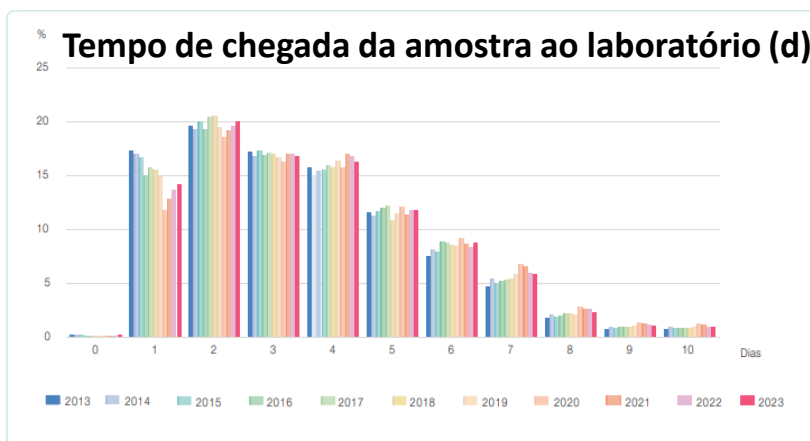


Figura 7 – Número de dias decorridos desde a colheita até à receção no secretariado do Laboratório (2013-2023).

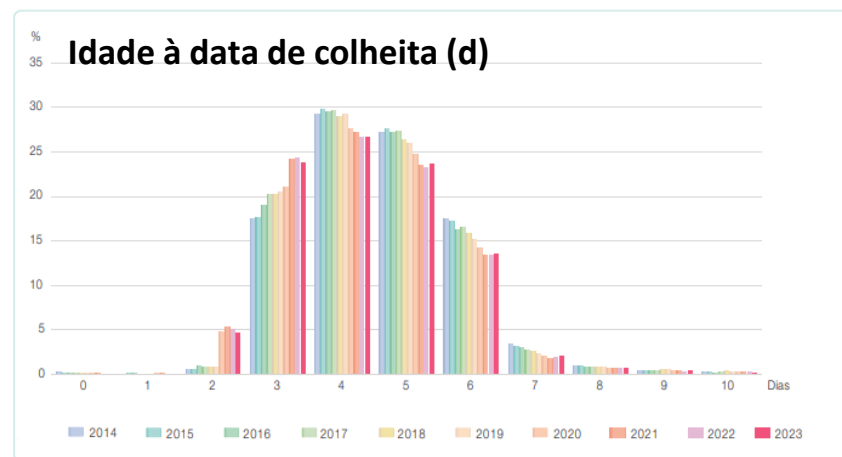


Figura 6 – Idade do recém-nascido na altura da colheita (2014-2023).

Relatório PNRN, 2023

- ✓ Prevalência ao nascimento das patologias rastreadas
- ✓ Taxa de falsos positivos e falsos negativos
- ✓ Taxa de repetição (valores alterados e amostras inadequadas)
- ✓ Visualização de resultados na internet
- ✓ Avaliação de satisfação dos pais

- Relatório anual do Programa
- Reunião anual da comissão Técnica Nacional
- Reunião anual com os Centros de Tratamento/ Referência

Avaliação anual e indicadores do PNRN

Tabela 17 – Taxa de pedido de segundas amostras ao longo dos últimos anos (*recall rate*).

Ano	RN rastreados	Taxa de pedido de segundas amostras (<i>recall-rate</i>)					
		24 Doenças Hereditárias do Metabolismo	Hipotiroidismo Congénito	Fibrose Quística	Drepanocitose	Atrofia Muscular Espinal Estudo-piloto	Total 27+1 estudo-piloto patologias
2013	82.571	0,19%	0,11%	—	—	—	0,30% #
2014	83.100	0,22%	0,14%	0,31%	—	—	0,67%
2015	85.058	0,24%	0,06%	0,32%	—	—	0,62%
2016	87.577	0,23%	0,15%	0,34%	—	—	0,72%
2017	86.180	0,11%	0,11%	0,28%	—	—	0,50%
2018	86.827	0,10%	0,09%	0,29%	—	—	0,48%
2019	86.364	0,09%	0,08%	0,30%	—	—	0,47%
2020	85.456	0,09%	0,04%	0,31%	—	—	0,44%
2021	79.217	0,11%	0,08%	0,22%	—	—	0,46%
2022	83.436	0,11%	0,10%	0,29 %	—	—	0,50%
2023	85.764	0,11%	0,09%	0,08 %	0,02 %	0,02 %	0,32%

Rastreio Neonatal em Portugal



2678 doentes referenciados (PNRN, 2023)

Prevalência ao nascimento nacional global: 1:681 RN

JOIN US IN CELEBRATING



INTERNATIONAL
NEONATAL
SCREENING DAY

JUNE 28



ISNS
International Society
for Neonatal Screening



ESiD



1

julho 2025 - Porto

Biblioteca Municipal Almeida Garrett

Rua de D. Manuel II - Jardins do Palácio de Cristal

Programa

- 09:00 Sessão de abertura
Fernando de Almeida - Presidente do Programa Nacional de Rastreio Neonatal (PNRN) e Presidente do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge
Raquel Duarte - Diretora do Centro de Saúde Pública Doutor Gonçalves Ferreira, INSA - Porto
- 09:10 Guthrie day - Celebração Internacional do dia do Rastreio Neonatal
Laura Vilarinho - Coordenadora da Comissão Executiva do Programa Nacional de Rastreio Neonatal
- 09:20 Apresentação do "Programa Nacional de Rastreio Neonatal": relatório 2024 - Moderadora: Cristina Abreu dos Santos
Laura Vilarinho, Paula Garcia, Paulo Pinho e Costa - Comissão Executiva do Programa Nacional de Rastreio Neonatal
- 09:35 Mesa redonda de discussão das actividades do Programa Nacional de Rastreio Neonatal 2024 - Moderadora: Carla Pereira - Direcção-Geral da Saúde (DGS)
Laura Vilarinho - Coordenadora da Comissão Executiva do Programa Nacional de Rastreio Neonatal
Esmeralda Rodrigues - Centro de Referência para as Doenças Hereditárias do Metabolismo - ULS São João, Porto
Alice Mirante - Centro de Tratamento para o Hipotireoidismo Congénito do Hospital Pediátrico - ULS de Coimbra
Teresa Moreno - Centro de Tratamento para a Atrofia Espinhal do Hospital de Santa Maria - ULS Santa Maria, Lisboa
- 10:10 Pausa para café
- 10:25 Apresentação do filme "La vida en una Gota"
Moderador: Hugo Rocha - Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge
Pedro Lendinez - Presidente da Associação "Más Visibles"
- 10:40 Projecção do filme "La vida en una Gota"
- 12:10 Tertulia - Moderadoras: Raquel Duarte e Laura Vilarinho
Fernando de Almeida - Presidente do PNRN e Presidente do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge
Maria do Céu Machado - Coordenadora do Grupo de Trabalho Intersectorial para as Doenças Raras
Elisabete Almeida - Presidente da Associação Portuguesa de Fenilcetonúria e Outras Doenças Metabólicas - APOFEN
Laura Marques - Responsável pela Unidade de Infecçologia e Imunodeficiências - ULS Santo António, Porto
- 12:40 Assinatura de protocolo de cooperação entre o INSA e a APN - Associação Portuguesa de Neuromusculares
Fernando de Almeida - Presidente do PNRN e Presidente do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge
Joaquim Brites - Presidente da APN - Associação Portuguesa de Neuromusculares
- 13:00 Fim dos trabalhos
Fernando de Almeida - Presidente do PNRN e Presidente do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge

Inscrição gratuita, mas obrigatória, no website do INSA

Organização do processamento das amostras

PROGRAMA NACIONAL DO RASTREIO NEONATAL

Se esta colheita for uma repetição, assinale com uma cruz

22/01/21 03962711

Secretariado



Laboratório



Secretariado



PROGRAMA NACIONAL DO RASTREIO NEONATAL

Se esta colheita for uma repetição, assinale com uma cruz

22/01/21 03962711

Nome da Mãe [Handwritten]

Endereço [Handwritten]

Local de Coleta [Handwritten]

Medicação [Handwritten]

Local de Coleta [Handwritten]

COLABORE CONNOSCO no pezinho do bebé pode estar o seu futuro

UNIDADE DE SAÚDE DOUTOR RICARDO, ORGE
Unidade de Rastreio Neonatal, Metabolismo e Genética
Rua Alexandre Herculanu, 321
4000-055 Porto
Telef. 223 401 168 / 18 / 70



Hipotiroidismo Congénito

Hipoatividade e hipotonia

Macroglossia

Atraso de desenvolvimento /baixa estatura

Atraso mental severo e irrecuperável

Alterações neurológicas irreversíveis

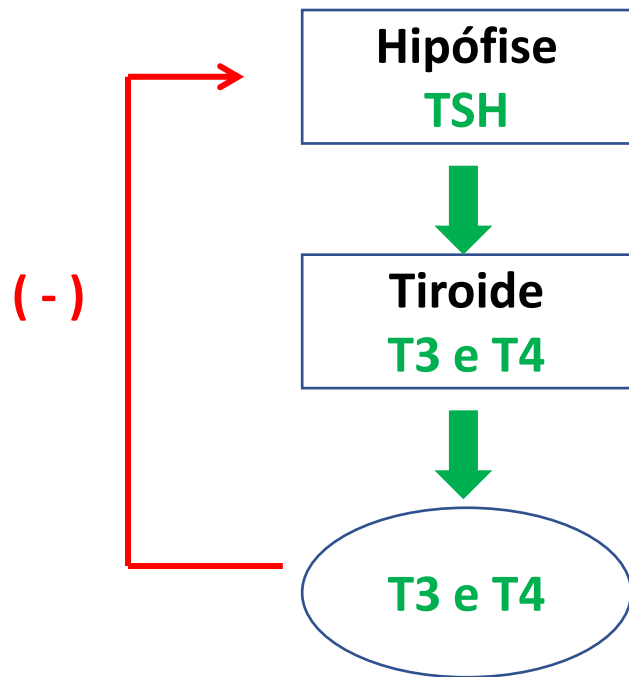
Prevalência em Portugal - 1: 2 707 RN

**Tratamento: levotiroxina
(L-tiroxina - T4)**

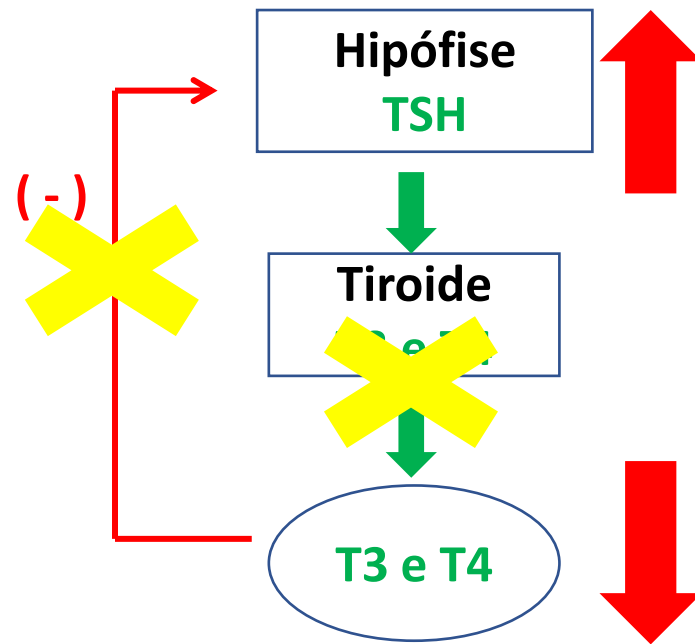
Pode não ter causa genética

Hipotiroidismo Congénito

RN Normal



RN com HC



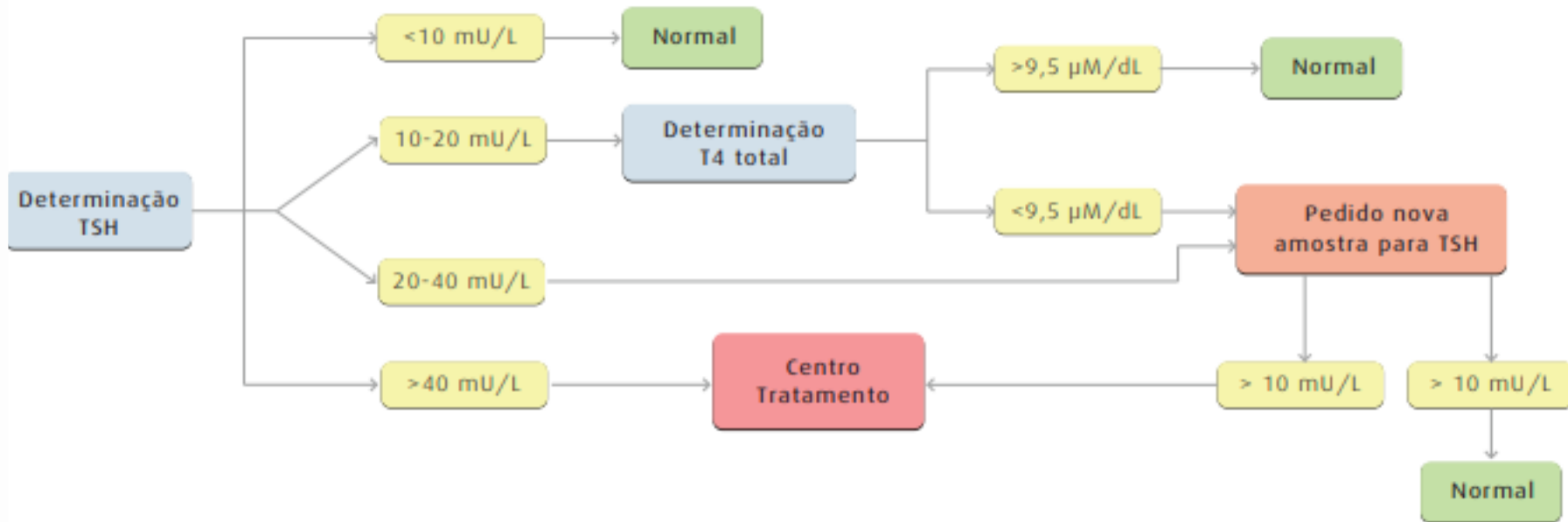
Hipotiroidismo Congénito Hipofisário não é identificado
Imaturidade do eixo hipotálamo-hipófise nos RN grandes prematuros

Colheita de amostra em RN grandes prematuros

Idade Gestacional	Colheitas
≥ 30 e ≤ 32 semanas	D3 – D6
	D14 – D15
	36S ou D alta
≥ 27 e < 30 semanas	D3 – D6
	D14 – D15
	D28 - D30
	36S ou D alta
< 27 semanas	D3 – D6
	D14 – D15
	D28 - D30
	32S
	36S ou D alta

Hipotiroidismo Congénito

Método de determinação do TSH e T4: imunoensaio de fluorescência (GSP® e AutoDelphia®)



Acreditação IPAC
NP EN ISO 15189,
desde 2014

Fibrose Quística

Doença genética (elevada frequência na população caucasiana)
Elevada heterogeneidade genética e fenotípica
Elevada concentração de ião Cl^- no suor
Clínica multissistémica, com evolução progressiva e irreversível:
Infeções respiratórias recorrentes (falência cardio-respiratória)
Insuficiência pancreática: atraso de desenvolvimento /baixo peso
Insuficiência hepática
Perturbações gastro-intestinais

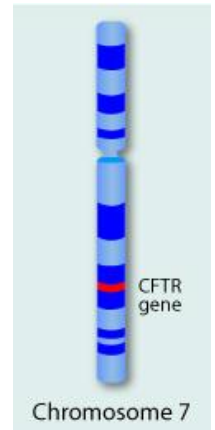
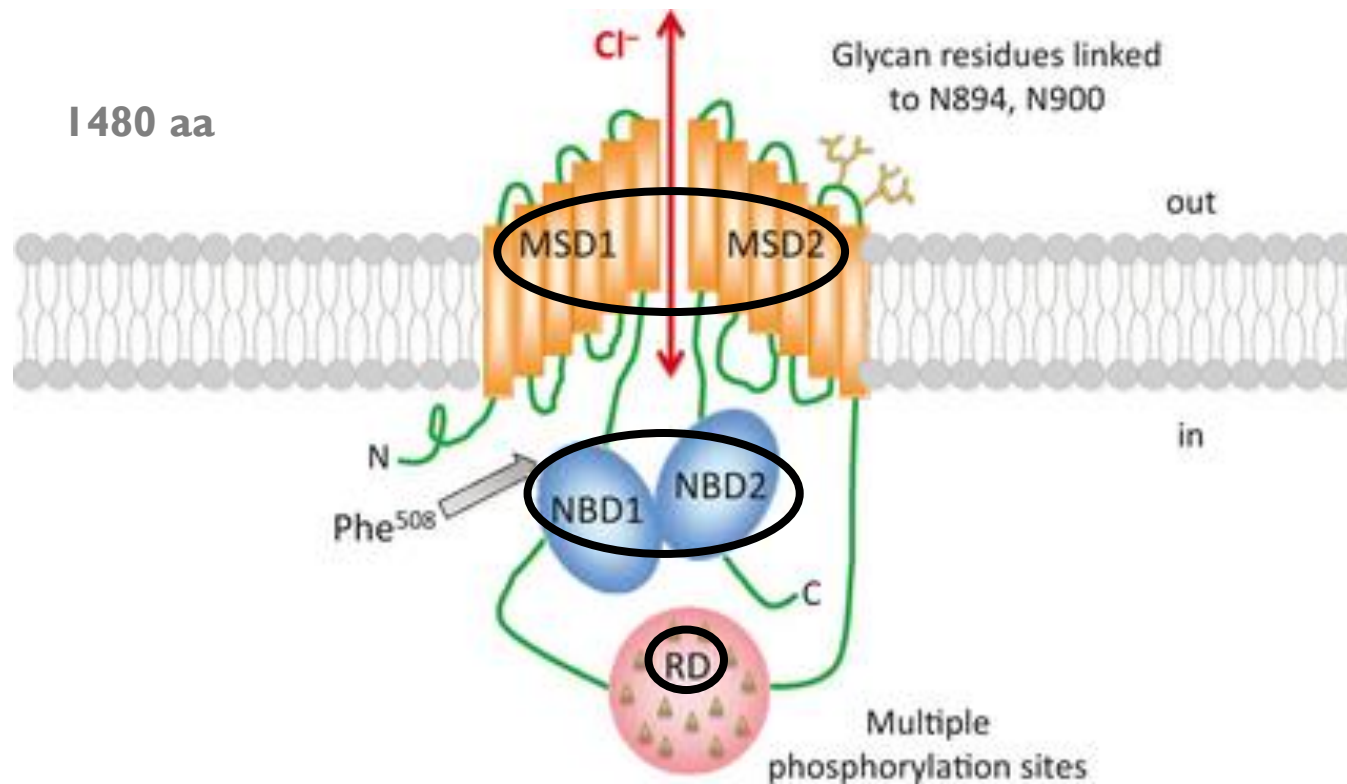
Prevalência em Portugal - 1: 10 058 RN

Tratamento: Prevenção de infeções respiratórias
Suplementação alimentar
Terapia dirigida aos órgãos afetados
Terapia genética personalizada (moduladores genéticos)

- ✓ Mutação p.F508del presente em 85% dos doentes Portugueses
- ✓ 20% não elegíveis para terapia com moduladores genéticos

Proteína CFTR

(Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator)



Farinha et al, FEBS J, 2013

- Glicoproteína integral da membrana apical das células epiteliais
- Canal iónico responsável pelo transporte de Cl⁻ (“suor salgado”)

Rastreo Neonatal da Fibrose Quística

Marcadores bioquímicos

Tripsina imunorreativa (IRT)
(Crossley *et al.*, 1979)

Proteína Associada à Pancreatite (PAP)
(Sarles *et al.*, 2005)

Estudo Genético

Pesquisa da mutação p.F508del
(Riordan *et al.*, 1989)

Pesquisa de mutações frequentes (30 a 68)

Análise genética alargada (Seq. Sanger, NGS)

Elevada heterogeneidade dos algoritmos de rastreio!

Em Portugal:

IRT/IRT + p.F508del (1º EP)

IRT + PAP / IRT (2º EP)

IRT + PAP + CFTR68 / IRT (desde 2023)



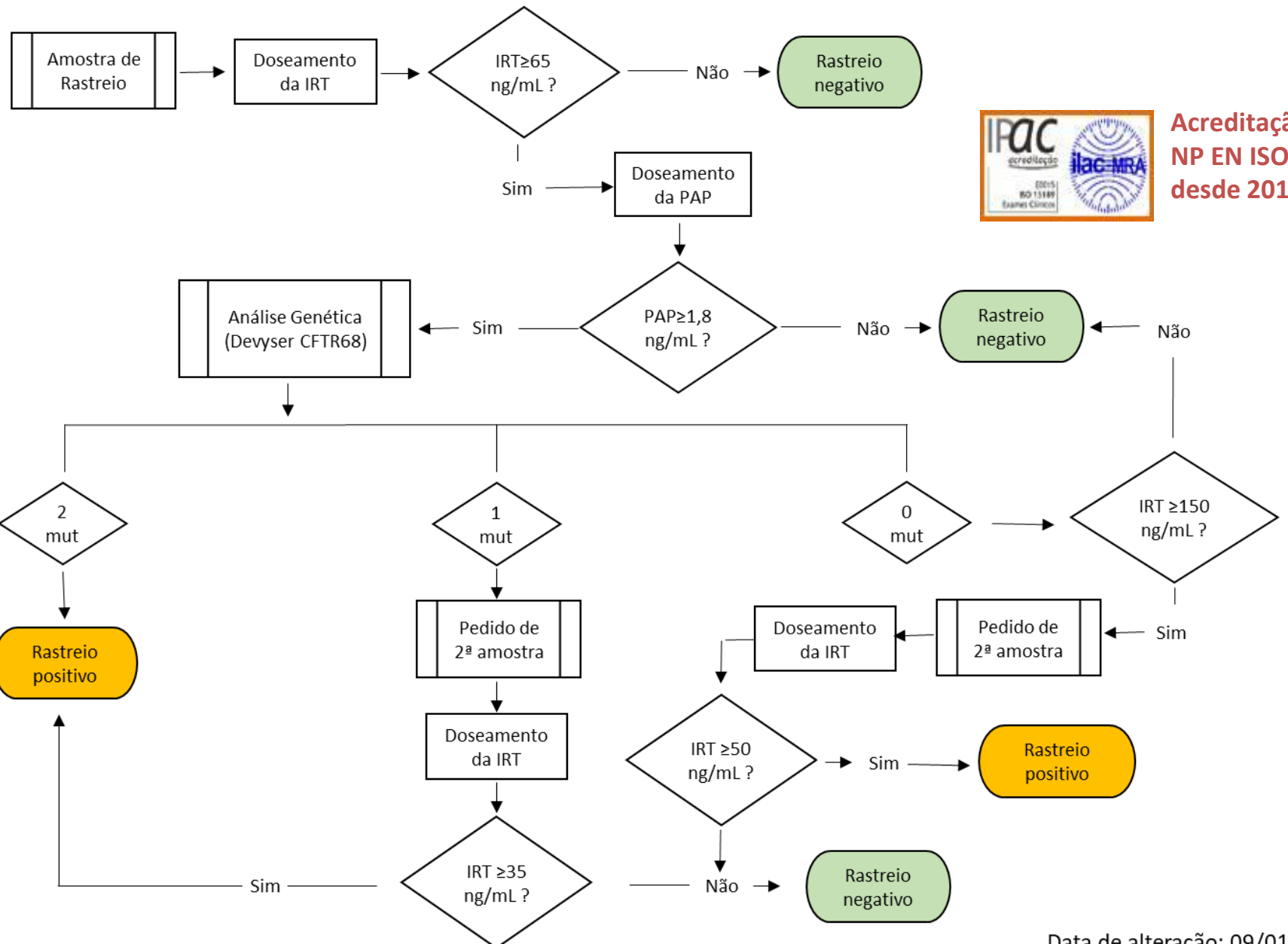
IRT: íleo meconial e idade do RN

Método de determinação do IRT: imunoensaio de fluorescência (GSP®)

Método de determinação do PAP: imunoensaio de fluorescência (Dynabio)

Estudo genético: CFTR68, Devyser

Programa Nacional de Rastreamento Neonatal – Algoritmo de Rastreamento Neonatal da Fibrose Quística



**Acreditação IPAC
NP EN ISO 15189,
desde 2019**

Drepanocitose

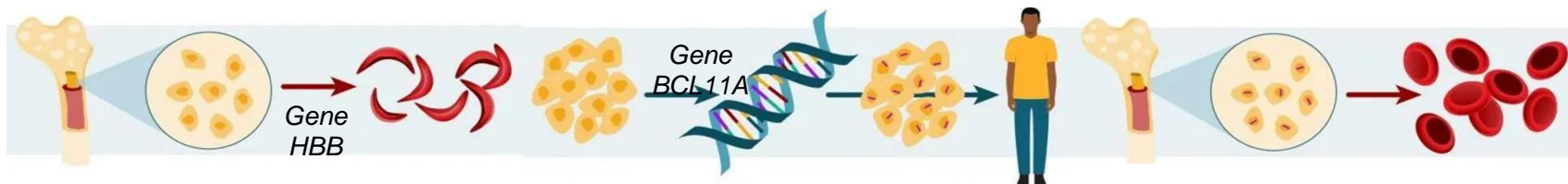
Doença genética muito frequente em zonas endémicas da malária. Os eritrócitos adquirem uma forma rígida alongada (forma de foice) que está na base da vaso-oclusão associada a esta patologia.

Fenótipo HbSS é o mais frequente (Glu6Val – gene HBB- cadeia β da hemoglobina)

Prevalência ao nascimento: 1: 2053 RN

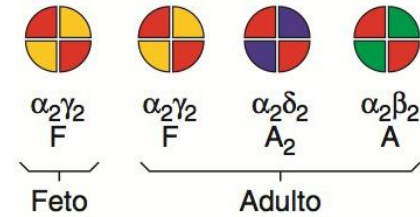
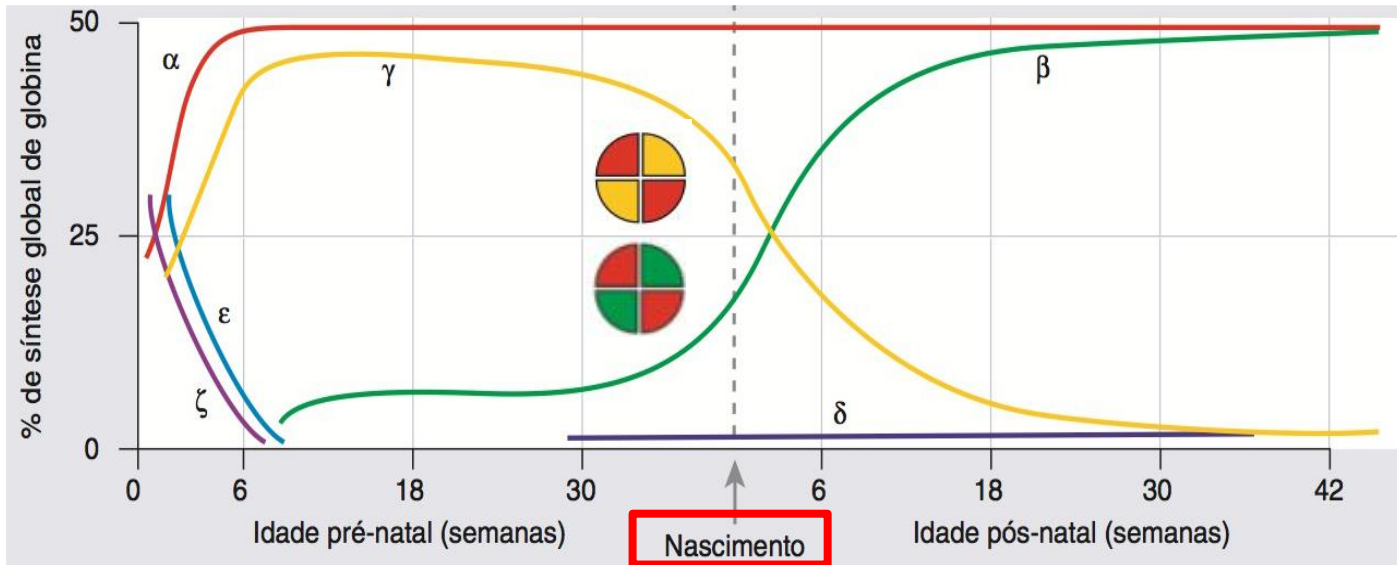
Sintomatologia: anemia hemolítica, fenómenos cardio-vasculares, crises agudas de dor, sequestração esplénica, disfunção renal e cardiopulmonar, elevada suscetibilidade a infeções.

Tratamento: prevenção de infeções (penicilina), prevenção da meningite (vacinação), prevenção de enfartes, anti-inflamatórios não esteroides (crises agudas de dor), transfusões crónicas, hidroxurea, transplante de medula, terapia génica (correção do gene HBB ou reativação da produção de HbF).

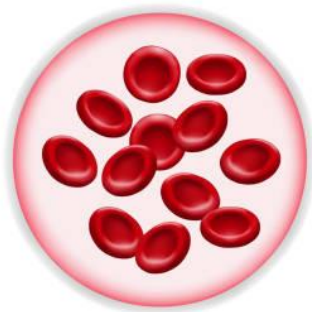


Os eritrócitos e a hemoglobina

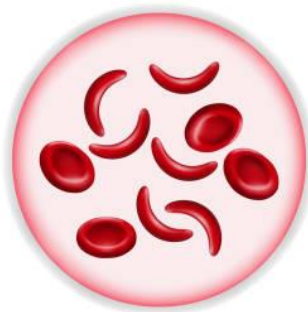
F($\alpha_2\gamma_2$) A($\alpha_2\beta_2$)



Sickle cell anemia



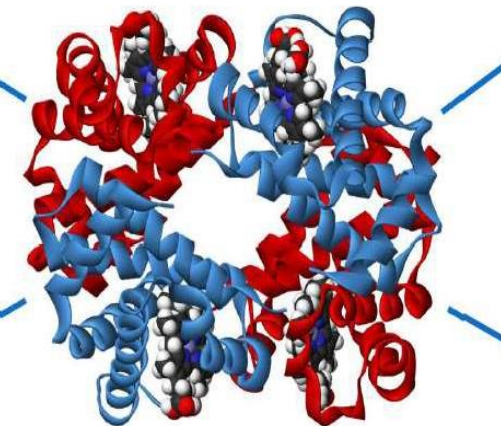
Normal red blood cells



Sickle cell anemia

Globin chain
• Alpha (α)

Globin chain
• Beta (β)
or
• Delta (δ)
or
• Gamma (γ)

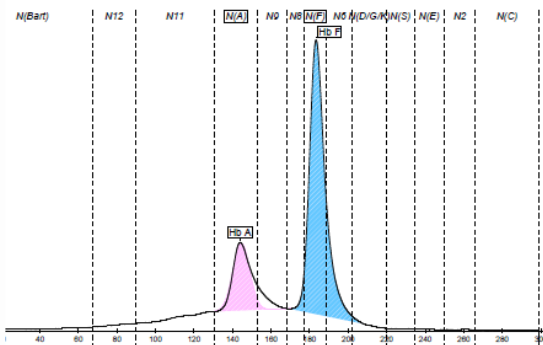


Globin chain
• Beta (β)
ou
• Delta (δ)
ou
• Gamma (γ)

Globin chain
• Alpha (α)

Rastreo neonatal da Drepanocitose

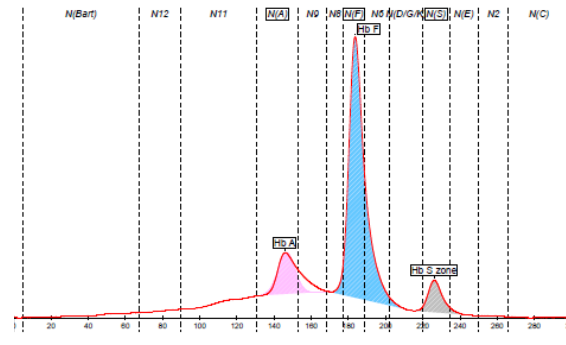
Perfil de hemoglobinas neonatal – Eletroforese capilar (Capillarys 3 DBS – Sebia)



Neonatal Haemoglobin Electrophoresis

Name	%	A / F :
Hb A	21.0	0.27
Hb F	79.0	A / X :

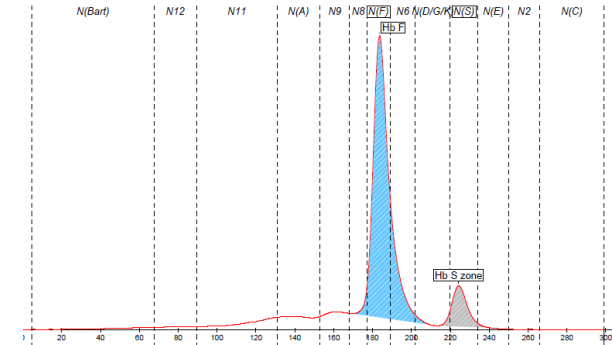
Normal



Neonatal Haemoglobin Electrophoresis

Name	%	A / F :
Hb A	13.4	0.17
Hb F	78.1	A / X : 1.58
Hb S zone	8.5	

Traço falciforme



Neonatal Haemoglobin Electrophoresis

Name	%	A / F :
Hb F	88,3	A / F :
Hb S zone	11,7	A / X :

Drepanocitose

	RN	HbSS	HbSC	HbEE	β-talassemia major	Prevalência ao nascimento
Lisboa e Setúbal (05/2021-01/2022)	24 130	24	2	1	-	1: 894
Portugal (02/2022-12/2023)	164 087	57	9	3	1	1: 2 344

Colheita de amostra para rastreio neonatal

Transfusões

Se possível, efetuar uma colheita pré-transusão (efetuar 2ª colheita para rastreio das DHM se alimentação <36h)

Se não foi efetuada colheita pré-transusão:

Transusão de concentrado de glóbulos rubros: efetuar a colheita como habitualmente e repetir passado 4 meses para o rastreio da drepanocitose

Transusão de plasma: efetuar a colheita assegurando 36h de alimentação pós-transusão

Atrofia Muscular Espinhal (AME)

Doença genética neuromuscular, resultante de mutações no gene *SMN1*, e caracterizada pela degeneração progressiva dos neurónios motores da medula espinhal, resultando em fraqueza e atrofia muscular progressivas. Severidade clínica depende do nº de cópias do gene *SMN2*.

Prevalência ao nascimento: 1: 14 515 RN

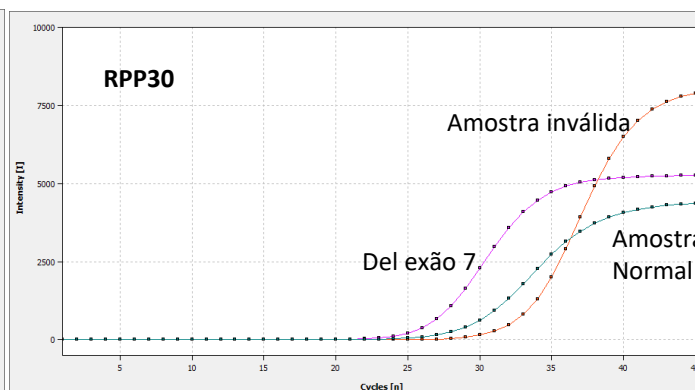
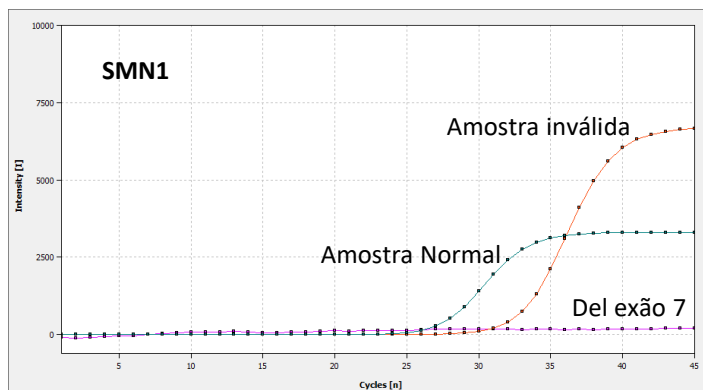
Tratamento:

Nusinersen (Spinraza – administração regular por injeção intratecal, na medula espinhal): oligonucleotídeo antisense sintético que permite que o gene *SMN2* produza a proteína normal.

Onasemnogene abeparvovec (Zolgensma-perfusão intravenosa de dose única): é um medicamento de **terapia genética**, que leva à expressão da proteína humana de sobrevivência do neurónio motor (SMN).

Atrofia Muscular Espinhal

Multiplex RT-PCR – Eonis Dry Chemistry
Eonis SMN1 (SMA), TREC (SCID), KREC (XLA) kit



Other samples					
Well	Sample name	Ct		Sample result	
		RPP30	SMN1	RPP30	SMN1
C07	SMA4	26.85		Ok	Above limit
C10	Amostra inválida	33.44	33.28	Above limit	Invalid
F10	Amostra normal	29.59	27.82	Ok	Ok

Lower limit: 15.00 15.00
Upper limit: 33.00 32.00

Ct- ciclo de inicio amplificação

- ✓ Metodologia: PCR em tempo real (sistema EonisQ™ da Revvity)
- ✓ Deteta deleção, em homozigotia, ex.7 no gene *SMN1* (estimativa: 92% doentes em Portugal)

Imunodeficiência severa combinada (SCID)

Grupo heterogéneo de **doenças genéticas imunitárias** caracterizadas pela ausência de linfócitos T e ausência variável de linfócitos B e/ ou células exterminadoras naturais. Causa genética pode estar num elevado número de genes diferentes (>20 genes).

Sintomatologia:

Infeções respiratórias e gastrointestinais persistentes e recorrentes.

Prevalência ao nascimento estimada na Europa: 1: 50 000 a 1: 75 000 RN

Tratamento: Transplante de medula a efetuar o mais precocemente possível (antes da primeira infeção grave).



Vacinação!

Rastreio baseado na quantificação de TRECs (T lymphocyte receptor excision circles) – pequenas moléculas de DNA circular formadas na maturação dos linfócitos T.

Em estudo piloto desde 1 de abril de 2025

Doenças Hereditárias do Metabolismo

Doenças genéticas caracterizadas por elevada heterogeneidade genética e fenotípica (bioquímica e clínica) e incidência muito variável

Prevalência ao nascimento: 1: 6 474 a 1: 835 206

Global (DHM): 1: 2 225 (PNRN, 2023)

Tratamento:

Doenças de intoxicação (metabolismo proteico)

Restrição proteica (produtos hipoproteicos)

Suplementação com aminoácidos essenciais

Eliminação de compostos tóxicos acumulados

Doenças da β -oxidação mitocondrial dos ácidos gordos (metabolismo energético)

Evitar situações de elevado consumo energético (jejum prolongado, exercício físico intenso, stress metabólico)

Fornecer substratos energéticos alternativos

Colheita de amostra para rastreio neonatal

RN com quadro clínico sugestivo de doença metabólica

Pode ser efetuado rastreio a 2 tempos

Colheita 1: D0 – D1 (permite rastreio das doenças do metabolismo energético)

Colheita 2: >36h alimentação (permite rastreio das doenças do metabolismo proteico)

Colheita de amostra para rastreio neonatal

RN com quadro clínico que não permite alimentação oral exclusiva

Com aporte proteico adequado idade/peso:

- ✓ efetuar rastreio normalmente

Sem aporte proteico adequado idade/peso:

- ✓ 1ª colheita sem alimentação
- ✓ 2ª colheita após 36h de alimentação adequada

Alimentação parentérica – indicação obrigatória / repetição recomendada (após introdução de alimentação oral exclusiva)

Doenças Hereditárias do Metabolismo (24)

- Fenilcetonúria (PKU) / Hiperfenilalaninemias

- Tirosinemia Tipo I
- Tirosinemia Tipo II
- Leucinose (MSUD)
- Homocistinúria Clássica
- Hipermetioninemia (Déf. MAT)

- Citrulinemia Tipo I
- Acidúria Arginino-Succínica
- Hiperargininemia

- Acidúria Propiónica (PA)
- Acidúria Metilmalónica (MMA: Mut-, Def Cbl C/D)
- Acidúria Isovalérica (IVA)
- Acidúria 3-Hidroxi-3-Metilglutárica (3-HMG)
- Acidúria Glutárica Tipo I (GA I)
- 3-Metilcrotonilglicinúria (Déf. 3-MCC)
- Acidúria Malónica

- Def. da Desidrogenase dos Ácidos Gordos de Cadeia Média (MCADD)
- Def. da Desidrogenase dos Ácidos Gordos de Cadeia Muito Longa (VLCADD)
- Def. da Desidrogenase de 3-Hidroxi-Acil-CoA de Cadeia Longa (LCHADD)/TFP
- Def. em Carnitina-Palmitoil Transferase I (CPT I)
- Def. em Carnitina-Palmitoil Transferase II (CPT II)/CACT
- Def. Múltipla das Acil-CoA Desidrogenases dos Ácidos Gordos (Acidúria Glutárica Tipo II)
- Def. Primária em Carnitina (CUD)
- Def. da Desidrogenase de 3-Hidroxi-Acil-CoA de Cadeia Curta (SCHAD)

Aminoacidopatias

Doenças do ciclo da ureia

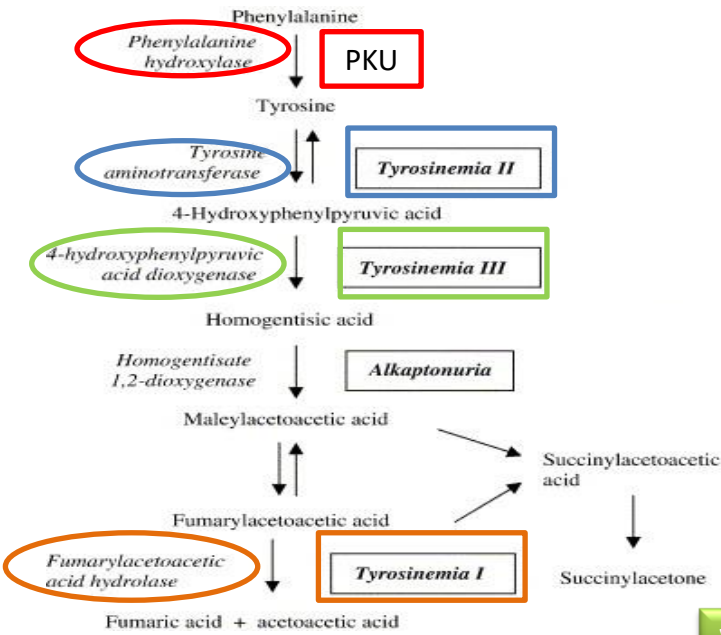
Acidúrias Orgânicas

Doenças da β -oxidação Mitocondrial dos Ácidos Gordos

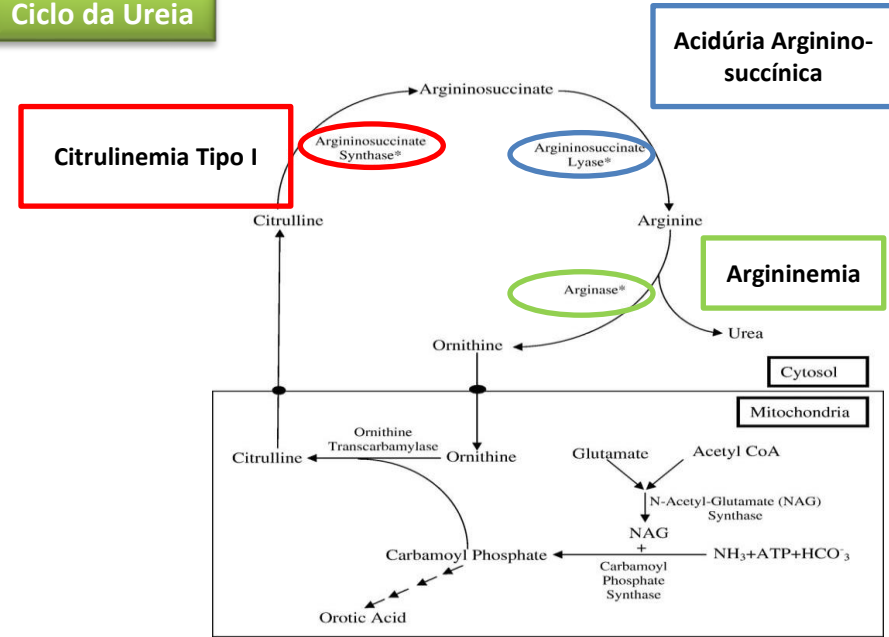
Doenças do metabolismo proteico (intoxicação)

Doenças do metabolismo energético

Via de degradação da Phe



Ciclo da Ureia



Acidúria Arginino-succínica

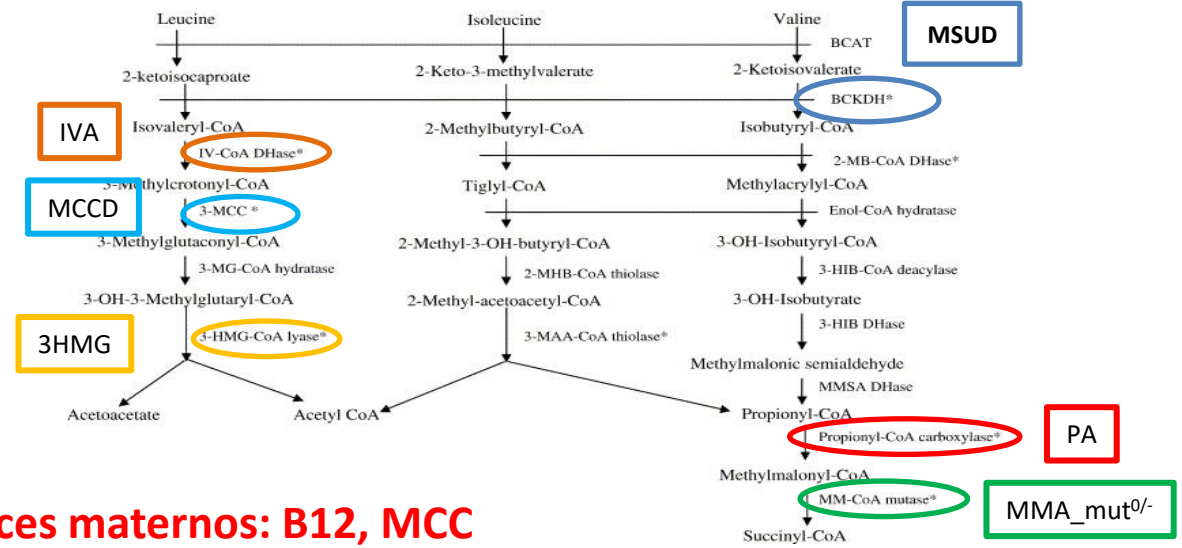
Citrulinemia Tipo I

Argininemia

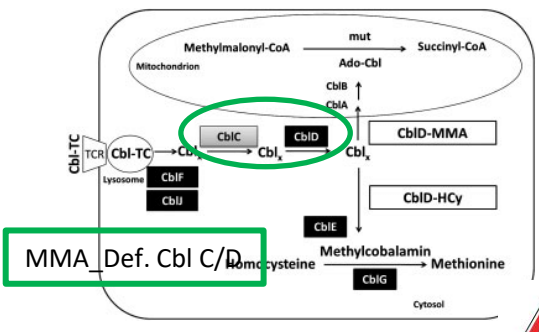
Cytosol

Mitochondria

Via de degradação dos aa de cadeia ramificada

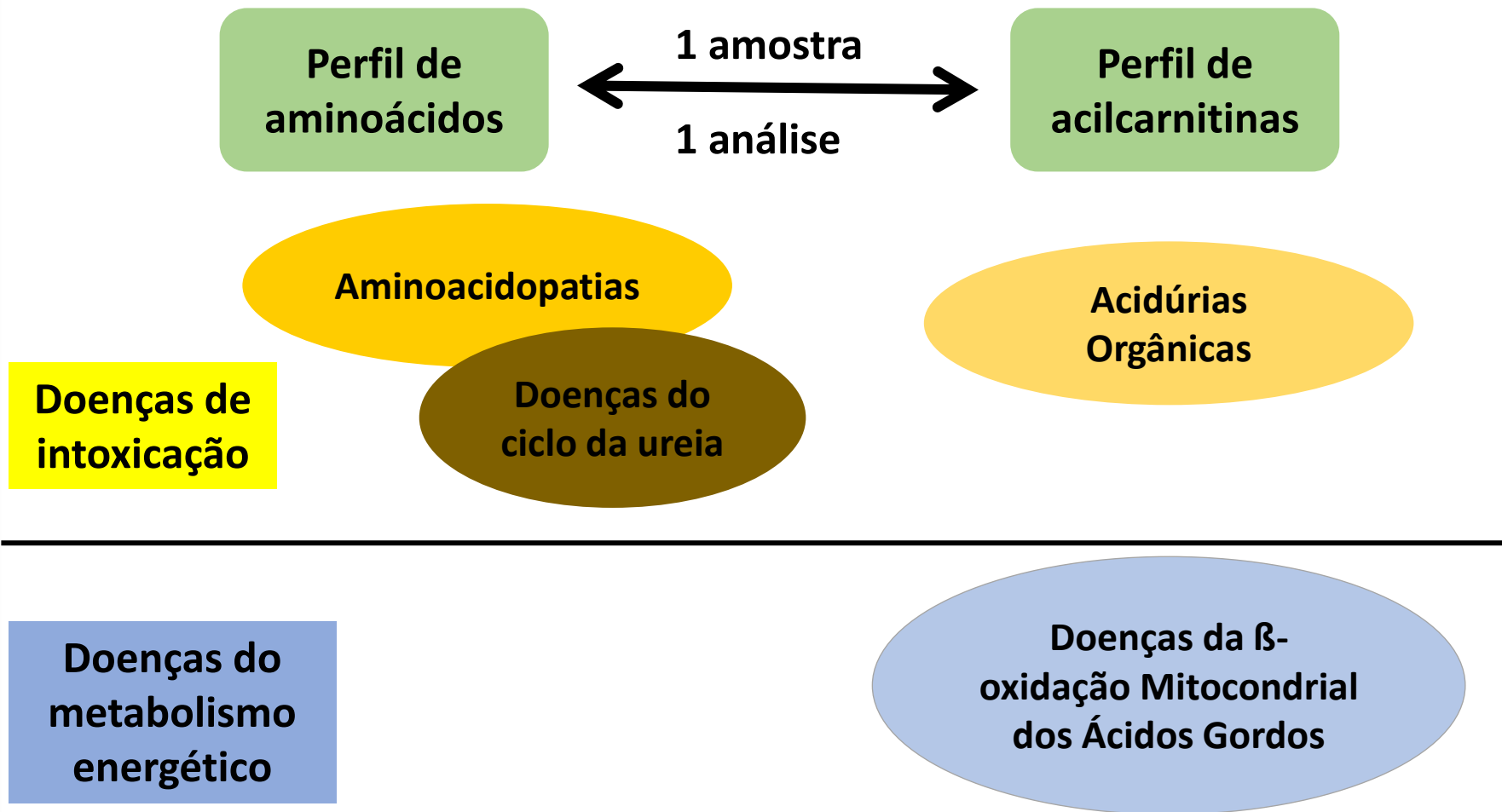


Metabolismo da Cobalamina

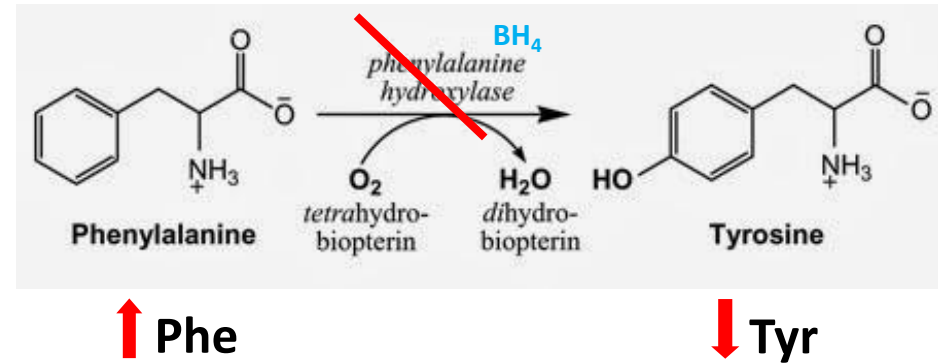
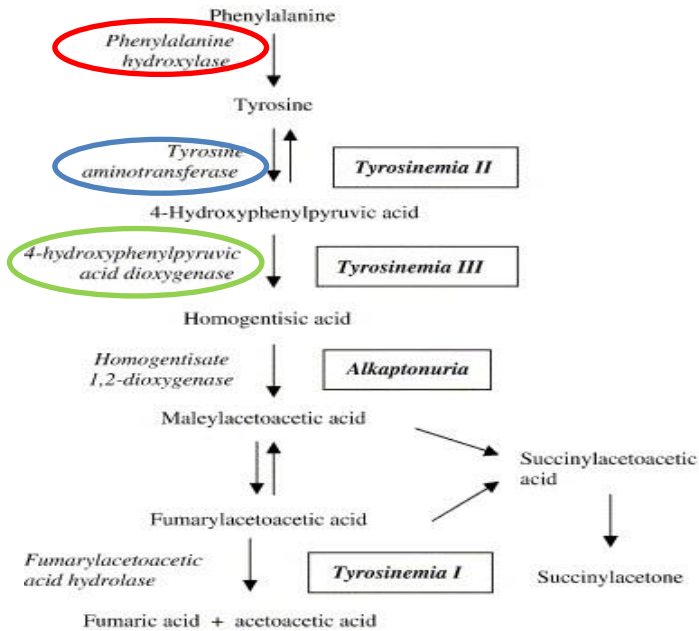


Doenças Hereditárias do Metabolismo

Método: análise por ms/ms de derivados butilados de aminoácidos e acilcarnitinas (“in house”)

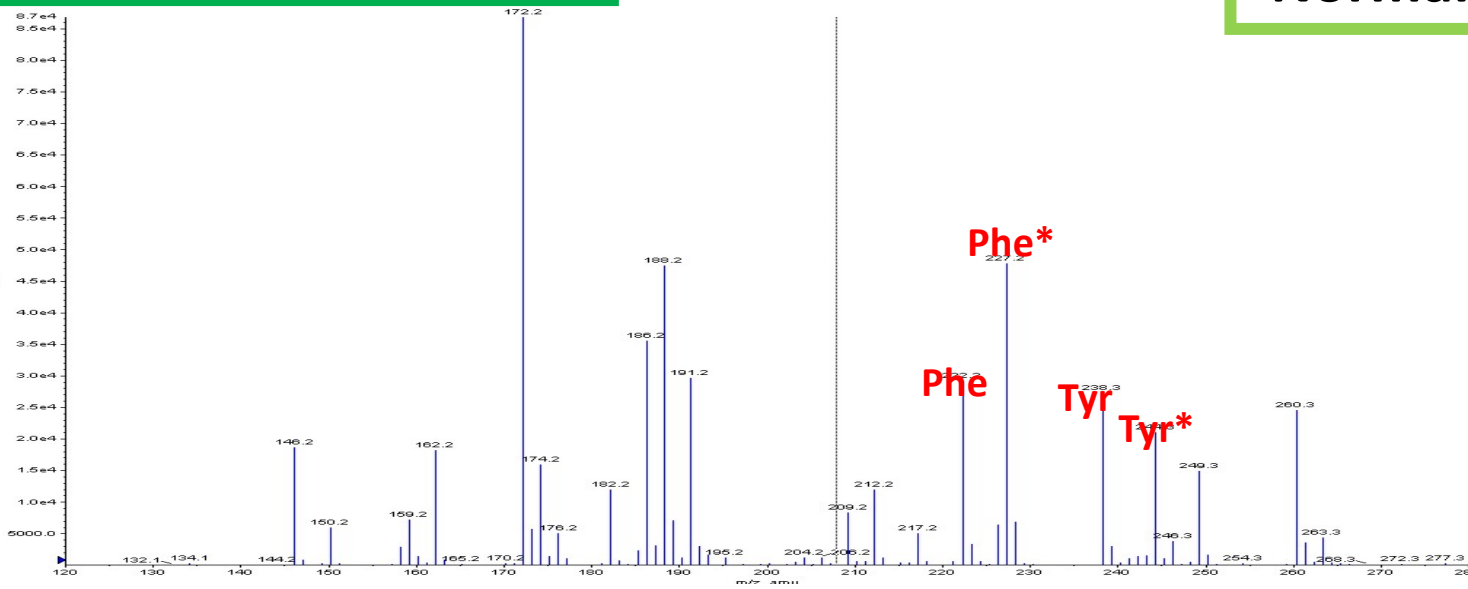


Aminoacidopatias – Fenilcetonúria

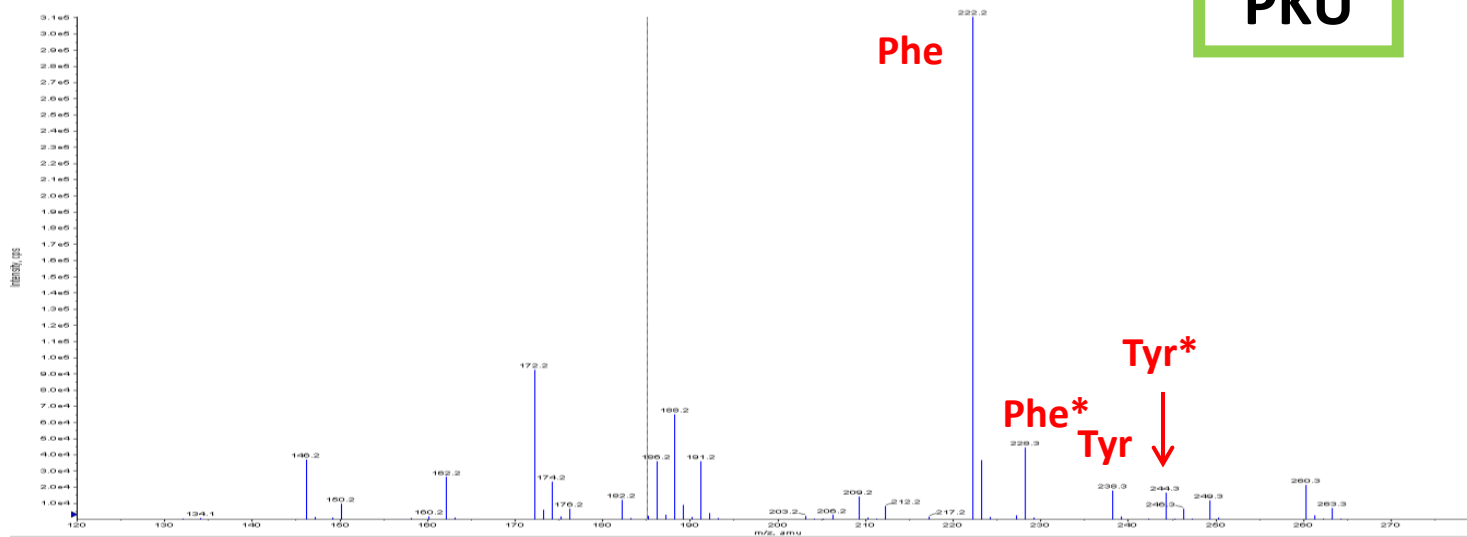


Perfil de aminoacidos

Normal



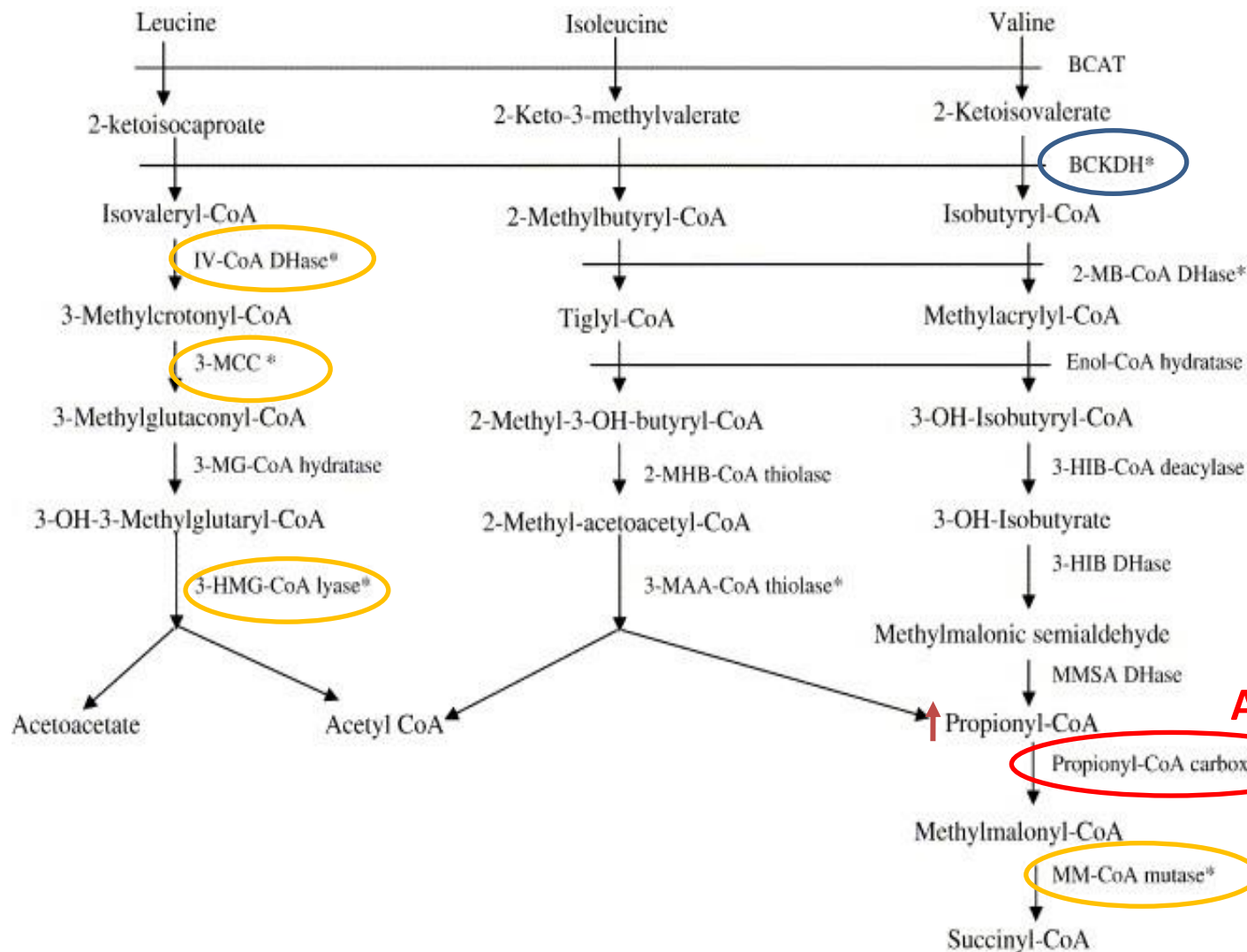
PKU



Aminoacidopatias – Fenilcetonúria

Met	16.61	ASA MRM	0.10	C6DC MRM	0.02	C16-OH MRM	0.02
Val MRM	118.67	GAA MRM	1.62	C8 MRM	0.06	C18:1-OH MRM	0.02
XLEU MRM	114.97	Arg/Orn MRM	0.24	C10 MRM	0.06	C18-OH MRM	0.01
Phe MRM	735.84	Cit/Arg MRM	1.63	C10:1 MRM	0.03	C3/C2 MRM	0.05
Tyr MRM	88.03	Cit/Orn MRM	0.39	C10:2 MRM	0.02	C3/Met MRM	0.07
Phe/Tyr MRM	8.36	C0 MRM	21.28	C12 MRM	0.10	C3/C16 MRM	0.51
Val/Phe MRM	0.16	C2 MRM	24.70	C12:1 MRM	0.03	C4/C2 MRM	0.01
XLeu/Phe MRM	0.16	C3 MRM	1.21	C14 MRM	0.24	C4/C3 MRM	0.22
Met/Xleu MRM	0.14	C3DC MRM	0.02	C14:1 MRM	0.10	C5/C2 MRM	0.01
Asp NL	30.67	C4 MRM	0.26	C14:2 MRM	0.05	C5/C3 MRM	0.12
Glu NL	317.22	C4DC MRM	0.12	C14-OH MRM	0.02	C5DC/C8 MRM	2.43
Gly MRM	246.66	C4OH MRM	0.12	C16 MRM	2.37	C8/C2 MRM	0.00
Ala NL	197.77	C5 MRM	0.15	C16:1 MRM	0.19	C8/C10 MRM	0.95
Cit MRM	14.21	C5:1 MRM	0.01	C17 MRM	0.06	C14:1/C12:1 MRM	2.91
Met NL	16.61	C5DC MRM	0.14	C18 MRM	0.74	C14:1/C16 MRM	0.04
Orn MRM	36.19	C5-OH MRM	0.17	C18:1 MRM	1.71	C16/C14:1 MRM	24.04
Arg MRM	8.74	C6 MRM	0.03	C18:2 MRM	0.34	C16-OH/C16 MRM	0.01
						C0/(C16+C18) MRM	6.84
						(C16+C18:1)/C2 MRM	0.17
						Met/Phe MRM	0.02

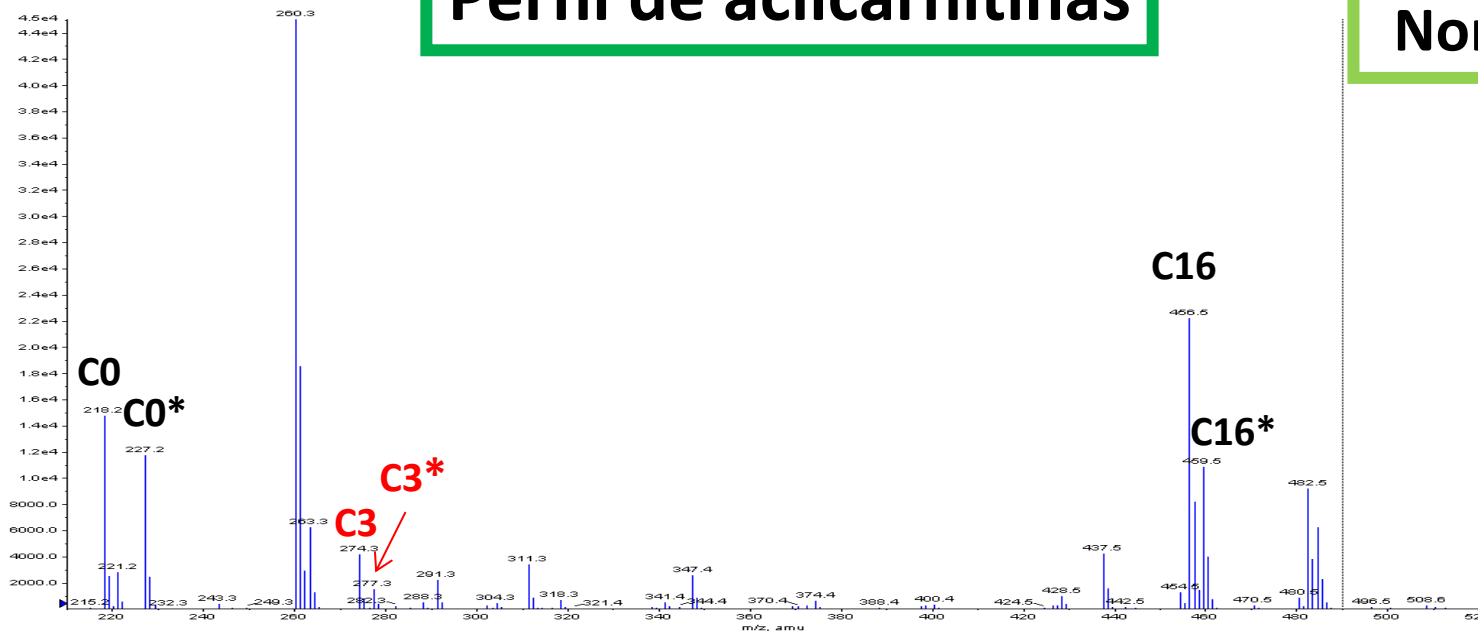
Acidúrias orgânicas – Ac. propiônica



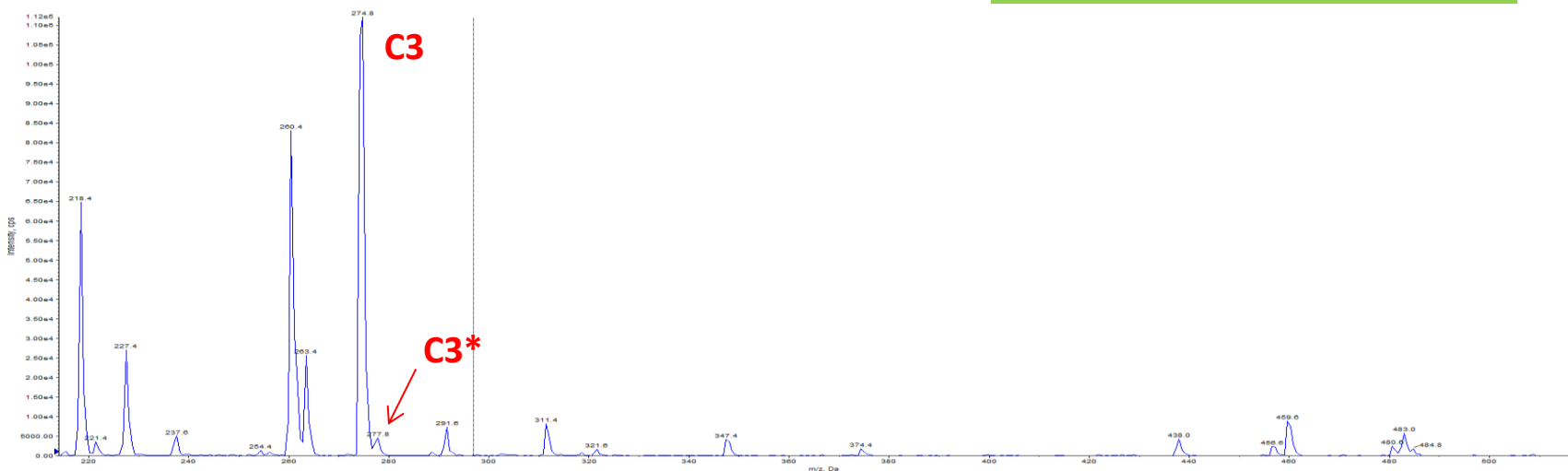
Ac propiônica

Perfil de acilcarnitinas

Normal



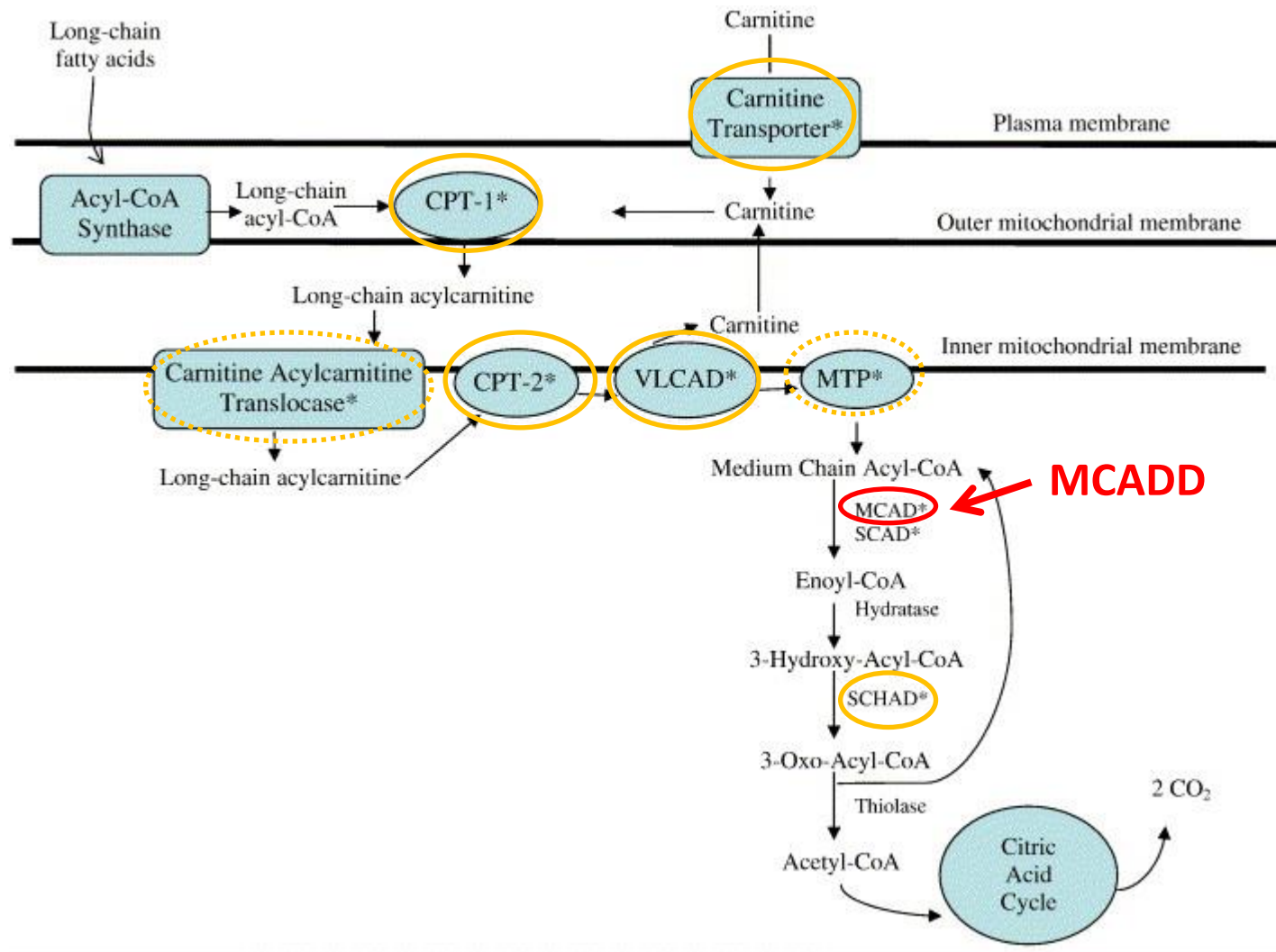
Acidúria Propiónica



Acidúrias orgânicas – Ac. propiônica

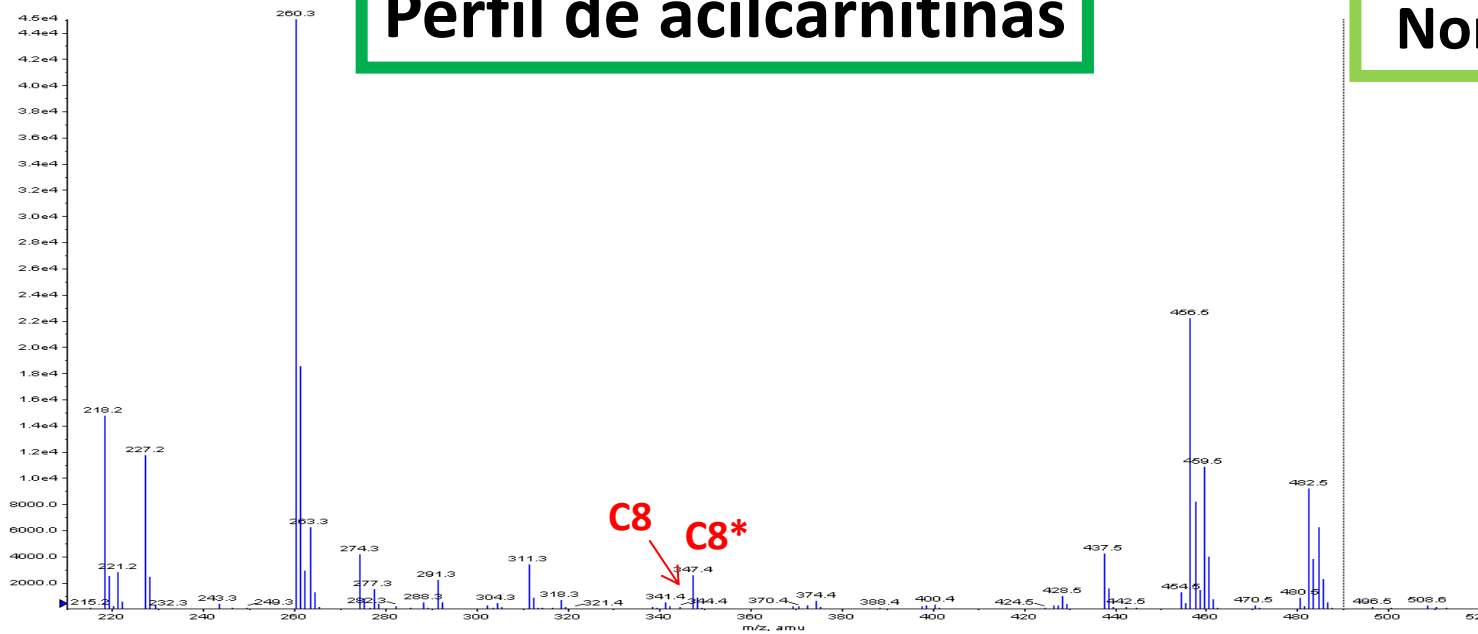
Met	26.71	ASA MRM	0.15	C6DC MRM	0.02	C16-OH MRM	0.03
Val MRM	168.91	GAA MRM	0.77	C8 MRM	0.09	C18:1-OH MRM	0.04
XLEU MRM	165.41	Arg/Orn MRM	0.12	C10 MRM	0.11	C18-OH MRM	0.03
Phe MRM	75.56	Cit/Arg MRM	1.18	C10:1 MRM	0.05	C3/C2 MRM	0.28
Tyr MRM	112.28	Cit/Orn MRM	0.14	C10:2 MRM	0.01	C3/Met MRM	0.41
Phe/Tyr MRM	0.67	C0 MRM	42.95	C12 MRM	0.16	C3/C16 MRM	2.46
Val/Phe MRM	2.23	C2 MRM	38.09	C12:1 MRM	0.05	C4/C2 MRM	0.01
XLeu/Phe MRM	2.19	C3 MRM	10.87	C14 MRM	0.29	C4/C3 MRM	0.02
Met/Xleu MRM	0.16	C3DC MRM	0.04	C14:1 MRM	0.13	C5/C2 MRM	0.01
Asp NL	37.77	C4 MRM	0.23	C14:2 MRM	0.04	C5/C3 MRM	0.02
Glu NL	369.40	C4DC MRM	0.25	C14-OH MRM	0.03	C5DC/C8 MRM	0.39
Gly MRM	490.05	C4OH MRM	0.32	C16 MRM	4.42	C8/C2 MRM	0.00
Ala NL	319.70	C5 MRM	0.24	C16:1 MRM	0.38	C8/C10 MRM	0.78
Cit MRM	9.38	C5:1 MRM	0.03	C17 MRM	0.07	C14:1/C12:1 MRM	2.53
Met NL	26.71	C5DC MRM	0.03	C18 MRM	1.22	C14:1/C16 MRM	0.03
Orn MRM	65.22	C5-OH MRM	0.20	C18:1 MRM	2.29	C16/C14:1 MRM	33.84
Arg MRM	7.97	C6 MRM	0.04	C18:2 MRM	0.26	C16-OH/C16 MRM	0.01
						C0/(C16+C18) MRM	7.61
						(C16+C18:1)/C2 MRM	0.18
						Met/Phe MRM	0.35

Doenças da β -oxidação mitocondrial dos ácidos gordos - MCADD

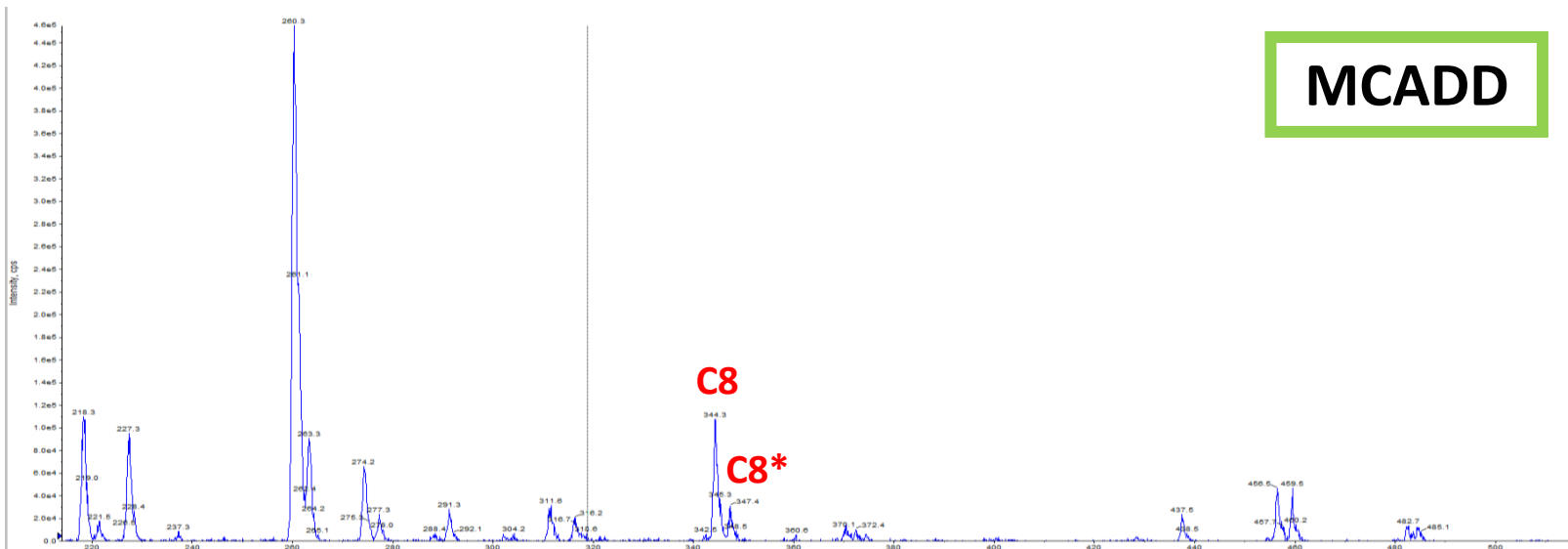


Perfil de acilcarnitinas

Normal



MCADD



Doenças da β -oxidação mitocondrial dos ác. gordos - MCADD

ASA MRM	0.18	C6DC MRM	0.11	C16-OH MRM	0.03
GAA MRM	1.07	C8 MRM	9.18	C18:1-OH MRM	0.02
Arg/Orn MRM	0.22	C10 MRM	0.80	C18-OH MRM	0.01
Cit/Arg MRM	0.99	C10:1 MRM	0.98	C3/C2 MRM	0.07
Cit/Orn MRM	0.22	C10:2 MRM	0.05	C3/Met MRM	0.11
C0 MRM	27.53	C12 MRM	0.23	C3/C16 MRM	0.53
C2 MRM	27.14	C12:1 MRM	0.07	C4/C2 MRM	0.02
C3 MRM	1.91	C14 MRM	0.29	C4/C3 MRM	0.26
C3DC MRM	0.23	C14:1 MRM	0.14	C5/C2 MRM	0.01
C4 MRM	0.49	C14:2 MRM	0.05	C5/C3 MRM	0.11
C4DC MRM	0.13	C14-OH MRM	0.03	C5DC/C8 MRM	0.01
C4OH MRM	0.16	C16 MRM	3.60	C8/C2 MRM	0.34
C5 MRM	0.20	C16:1 MRM	0.19	C8/C10 MRM	11.44
C5:1 MRM	0.02	C17 MRM	0.04	C14:1/C12:1 MRM	2.03
C5DC MRM	0.14	C18 MRM	1.07	C14:1/C16 MRM	0.04
C5-OH MRM	0.22	C18:1 MRM	1.53	C16/C14:1 MRM	25.22
C6 MRM	0.96	C18:2 MRM	0.22	C16-OH/C16 MRM	0.01
				C0/(C16+C18) MRM	5.90

Rastreo das DHM

Patologia	Marcador alterado	Teste 2ª linha
PKU/ HPA	Phe (Phe/Tyr)	-----
MSUD (leucinose)	X-Leu; Val	-----
Tirosinemia Tipo 1	Tyr	Succinilacetona
Tirosinemia Tipo 2/3	Tyr	-----
Homocistinúria (Def. CBS)	Met	Homocisteína total
Défice de MAT I/III	Met	-----
Citrulinemia Tipo 1	Cit	-----
Ac. Argininosuccínica	ASA; Cit	-----
Argininemia	Arg; Arg/Orn	-----
Def. 3-MCC /Def. HCS	C5OH	-----
Ac. Isovalérica	C5	Isómeros C5
Def. SCHAD	C4OH	-----
Ac. Propiónica	C3; C3/C2	Propionilglicina (2017) Ac 3-OH-propiónico
Ac. Metilmalónica (Def. Mutase)	C3; C3/C2	Ác. Metilmalónico (2017)
Ac. Glutárica Tipo 1	C5DC	-----
Ac. Metilmalónica (Def. Cbl C/D)	C3; C3/C2; C3/Met	Ác. Metilmalónico (2017) Homocisteína total (2017)
Def. 3-HMG	C5OH; C6DC	-----
Def. MCAD	C8; C8/C10	-----
Def. LCHAD	C16OH; C18:1OH; C18OH; C16OH/C16	-----
Ac. Glutárica Tipo 2	C4, C5,...,C18	-----
Def. Primário da Carnitina	C0↓; C16↓, C18:1↓; C18↓; C18:2↓	-----
Def. VLCAD	C14:1; C14:2; C14:1/C12:1	-----
Def. CPT 1a	C0/(C16+C18)	-----
Def. CPT 2	C0/(C16+C18)↓	-----

Estratégias de otimização do rastreio metabólico

- ✓ Avaliação externa da qualidade
- ✓ Revisão contínua de marcadores e cut-offs
- ✓ Implementação de testes de 2ª linha

Doença	Marcador	Teste de 2ª linha
Tirosinemia tipo 1	Tyr	Succinilacetona
Acidúria Isovalérica	C5	Separação dos compostos isobáricos do C5
Homocistinúria Clássica (Def. CBS)	Met	Hcys total
Doenças do metabolismo do C3 (PA, MMA mut/Cbl)	C3; C3/C2; C3/Met	MMA; PGly; tHCys

Incidência em Portugal

	Inborn Errors of Metabolism	Patients	Incidence
Aminoacidopathies (1: 6 148)	Phenylketonuria (PKU)	371	1: 11 247
	Hyperphenylalaninaemias	44	1: 37 964
	Tyrosinemia type I	6	1: 278 402
	Tyrosinemia type II/ III	8	1: 208 802
	Maple syrup urine disease (MSUD)	20	1: 83 521
	Homocystinuria (CBS deficiency)	5	1: 334 082
	MAT I/III deficiency	42	1: 39 772
Urea cycle dis. (1: 57 600)	Citrullinemia type I	12	1: 139 201
	Argininosuccinate lyase deficiency	9	1: 185 601
	Arginase deficiency	8	1: 208 802
Organic acid. (1: 13 581)	Propionic aciduria (PA)	4	1: 417 603
	Isovaleric aciduria (IVA)	8	1: 208 802
	3-Methyl crotonyl-CoA carboxylase deficiency (MCCD) / Holocarboxylase synt. def.	43	1: 38 847
	Glutaric aciduria type I (GA I)	20	1: 83 521
	Methylmalonic aciduria (def. mut, Cbl metabolism)	34	1: 49 130
	3-Hydroxy-3-methylglutaryl CoA lyase deficiency (3HMG)	11	1: 151 856
	Malonic aciduria	3	1: 556 804
Mitochondrial fatty acid β -oxid. disorders (1: 5 108)	Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency (MCADD)	258	1: 6 474
	Very-long-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency (VLCADD)	14	1: 119 315
	Long-chain 3-OH acyl-CoA dehydrogenase deficiency (LCHADD)	18	1: 92 801
	Carnitine palmitoyl-transferase I deficiency (CPT I)	4	1: 417 603
	Carnitine palmitoyl-transferase II deficiency (CPT II/CACT def)	5	1: 334 082
	Multiple acyl-CoA dehydrogenase deficiency (MADD)	13	1: 128 493
	Carnitine transport defect (CUD)	13	1: 128 493
	Short-chain 3-OH acyl-CoA dehydrogenase deficiency (SCHAD)	2	1: 835 206

Nº total de doentes: 975

Incidência = 1: 2 225

(Relatório PNRN, 2023)

Avaliação do rastreio neonatal metabólico

Sensibilidade	100%
Valor preditivo negativo	100%
Especificidade	99,9%
Taxa de repetição	0,09%
Valor preditivo positivo	47%

Motivos para repetição

Sangue insuficiente

Amostra em más condições (ex. molhada)

Valores alterados:

<36h de alimentação

Prematuridade

Alimentação parentérica

Medicação

Causas maternas (GA 1, CUD, MCCD, Def. vit B12)

Confirmação laboratorial de um rastreio neonatal positivo

Doenças Hereditárias do Metabolismo

Análise	Amostra	Observações
Perfil de acilcarnitinas (ms/ms)	Sangue em cartão de Guthrie (2 círculos)	Temperatura ambiente
Perfil de aminoácidos (cromatografia de troca iónica)	Sangue em heparina de Lítio (2 mL)	Sangue à T.a. ou plasma congelado
Perfil de ácidos orgânicos (GC-MS)	Urina (1ª micção da manhã)	Refrigerada ou congelada
Estudos genéticos (Seq. Sanger, NGS)	Sangue em EDTA (2 mL)	Temperatura ambiente

Confirmação laboratorial de um rastreio neonatal positivo

Doenças Hereditárias do Metabolismo

Análise	Amostra	Observações
Amónia (ciclo da ureia) Homocisteína total (homocistinúria clássica, AMM por Def Cbl C/D)	Sangue em heparina de Lítio (2 mL)	Sangue à T.a. ou plasma congelado
Ácido orótico (ciclo da ureia) Perfil de pterinas (PKU maligna) Succinilacetona (tirosinemia tipo 1)	Urina	Refrigerada ou congelada
Atividade da DHPR (PKU maligna)	Sangue em cartão de Guthrie (2 círculos)	Temperatura ambiente

Rastreo Neonatal na Europa

CH	RMD	DHM (24)	X-ALD
CAH	UDP		
	Gal	SMA	LSD
CF	G6P	SCID	
	Biot		
SCD			

Elevada heterogeneidade (entre países / regiões):

- ✓ **Organização do programa (voluntário/consentimento/obrigatório)**
- ✓ **Doenças rastreadas (incluindo nº de DHM)**
- ✓ **Cobertura**
- ✓ **Idade à colheita**
- ✓ **Consentimento para guardar amostras/ quanto tempo**
- ✓ **Reporte de resultados normais**

Loeber *et al.*, 2021 (revisão relativa à Europa)

O futuro do Rastreio Neonatal

Avanço tecnológico

- Novos métodos e estratégias de rastreio
- Tratamentos mais efetivos



Aumento do nº de patologias rastreadas
Implementação do rastreio num número crescente de países
Heterogeneidade dos programas de rastreio



Necessidade de recomendações internacionais
para harmonização global do rastreio

Questões do rastreio neonatal

Que doenças rastrear?

Que algoritmos de rastreio utilizar?

Rastreio Genómico?

Rastreio metabólico?

Gestão de informação

Quem informa os pais?

Informação dos portadores?

Quem tem acesso?

Gestão de amostras excedentárias?

Bancos de amostras?

Bancos de DNA?

Gestão de bases de dados? Proteção de dados?

Nacionais? Europeias?

Quem gere? Quem tem acesso?

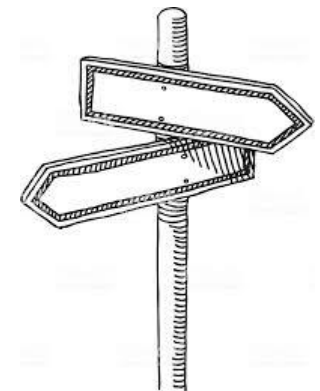
Take home message

Programas de rastreio devem ser sistemáticos e integrados: rastreio, confirmação, aconselhamento das famílias, tratamento em centros especializados

Programas de rastreio devem ser dinâmicos: avaliação e atualização permanentes

Têm implicações éticas, sociais, legais, culturais e religiosas dos programas de rastreio neonatal

A implementação dos programas de rastreio neonatal devem envolver decisores políticos, especialistas em saúde, associações de pais e doentes



NBS should always ensure “more good than harm”

QUESTÕES?

ana.marcao@insa.min-saude.pt